

Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

PHYTOCHEMISCHER BEITRAG ZUR
SORTENKUNDE
EINIGER PASSIFLORA-ARTEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

BERND GLOTZBACH

aus Hamburg

1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550821_0063

Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

PHYTOCHEMISCHER BEITRAG ZUR SORTENKUNDE EINIGER PASSIFLORA-ARTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
BERND GLOTZBACH
aus Hamburg

Das ist ein Teil der Dissertation
des Herrn Kandidaten
Dissertation: Dr. G. Schenck

PHYTOCHEMISCHER BEITRAG ZUR
SORTENKUNDE
EINIGER PASSIFLORA-ARTEN



Referent: Professor Dr. R. Hänsel
Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Februar 1969

Tag der Promotion: 13. März 1969

BERND GLOTTBACH
aus Leipzig

Die vorliegende Arbeit wurde von Institut für Physik, Physik der
Feste Körper, unter der Leitung des Herrn Prof. Dr. H. H. W. Müller,
Lehrer der Physik, angefertigt.

Die Arbeit wurde von Herrn Dr. H. H. W. Müller, Leiter des
Instituts für Physik, Physik der Feste Körper, unter der Leitung
des Herrn Prof. Dr. H. H. W. Müller, angefertigt.

Die Arbeit wurde von Herrn Dr. H. H. W. Müller, Leiter des
Instituts für Physik, Physik der Feste Körper, unter der Leitung
des Herrn Prof. Dr. H. H. W. Müller, angefertigt.

Meinen Eltern gewidmet

Die Arbeit wurde von Herrn Dr. H. H. W. Müller, Leiter des
Instituts für Physik, Physik der Feste Körper, unter der Leitung
des Herrn Prof. Dr. H. H. W. Müller, angefertigt.

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Rudolf Hänsel durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Hänsel, möchte ich für seine großzügige Förderung und wertvolle Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit besonders herzlich danken.

Mein aufrichtiger Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. H. Rimpler, wissenschaftlicher Assistent, und Frau Dr. L. Langhammer, Akademischer Rat, beide am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin, für zahlreiche Anregungen und klärende Gespräche.

Allen Mitarbeitern bin ich sehr dankbar, da sie stets um die Erfüllung meiner Wünsche besorgt waren.

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
I Einleitung und Problemstellung	11
II Botanik der untersuchten Drogen	13
III Bisherige Untersuchungen über die Inhaltsstoffe der Gattung Passiflora	16
IV Pharmakologie der Indol-Alkaloide	20
V Pharmakologie der Flavonoide	24
VI Pharmakologische Wirkung und volksheil- kundliche Verwendung von Passiflora sowie von Drogen mit verwandten Inhaltsstoffen	25
VII Eigene Untersuchungen	33
A Hauptteil	33
α Die Flavonoide der drei Passiflora-Arten	34
1. Extraktion der flavonoiden Substanzen	34
2. Flavon-Nachweis durch Tüpfelreaktionen	36
3. Chromatographische Methodik	36
3.1 Eindimensionale Papierchromatographie	36
3.2 Zweidimensionale Papierchromato- graphie	37
3.3 Zweidimensionale Dünnschichtchro- matographie	39
3.4 Vergleichssubstanzen	41
3.5 Flavon-Nachweis durch Sprühreagenzien	41
4. Hydrolysen von Kämpferol-3-glucosid, Quercetin-3-rutinosid und der Extrakte I	42
5. Chromatographie der hydrolysierten Substanzen	42
5.1 Zweidimensionale Papierchromato- graphie	42

	<u>Seite</u>
5.2 Zweidimensionale Dünnschichtchromatographie	45
6. Papierchromatographische Gegenüberstellung der Vergleichssubstanzen mit den Flecken A bis H	50
6.1 Identifizierung von Fleck A, Bund C	52
6.2 Identifizierung von Fleck H und D	54
7. Dünnschichtchromatographische Gegenüberstellung der Vergleichssubstanzen mit den Flecken 1 bis 12	56
8. Ergebnisse der Chromatographie	57
9. Versuche zur Anreicherung einzelner Flavonoide (<i>P. incarnata</i>)	58
10. Zur Jod-Reaktion der "löslichen Stärke" nach DUFOUR	59
<u>ß Die Alkaloide der drei Passiflora-Arten</u>	62
1. Die vier Carbolin-Basen	62
2. Methode der Extraktion und Vorbereitung der Extrakte zur Chromatographie	62
3. Chromatographische Methodik	64
3.1 Dünnschichtchromatographie	64
3.2 Ergebnisse der DC	64
3.3 Papierchromatographie	65
4. Vorkommen von nicht identifizierten Basen	65
5. Versuche zur Anreicherung einzelner Alkaloide (<i>P. incarnata</i>)	68
5.1 Darstellung aus der Droge	68
5.2 Extraktion der Alkaloide bei verschiedenen pH-Werten	68
5.3 Dünnschichtchromatographie und Ergebnisse der Alkaloidanreicherung	68
6. Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen der Harman -Alkaloide in den drei Arten	70

	<u>Seite</u>
6.1 Extraktion der Alkaloide	70
6.2 Vergleichssubstanzen	71
6.2.1 Berechnung des Korrekturwertes anhand der Vergleichssubstanzen	71
6.3 Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen	72
7. Aufstellung eines Inhaltsstoff-Musters	73
 B Experimenteller Teil	 74
Allgemeines	75
♣ <u>Die Flavonoide der drei Passiflora-Arten</u>	76
1. Methode der Extraktion und Vorbereitung der Extrakte zur Chromatographie	76
2. Tüpfelreaktionen	77
3. Chromatographische Methodik	78
3.1 Vergleichssubstanzen	78
3.2 Papierchromatographie	78
3.3 Dünnschichtchromatographie	80
4. Versuche zur Anreicherung einzelner Flavonoide (P. incarnata)	81
4.1 Hydrolysen	84
4.2 Identifizierung von Saponarin	84
4.2.1 UV-Spektrum	84
4.2.2 Säurehydrolyse und Prüfung auf Zucker	85
4.2.3 Jod-Reaktion nach DUFOUR	86
4.3 Isolierung von Saponaretin	86
4.3.1 Identifizierung von Saponaretin	87
4.3.2 UV-Spektrum	88
4.3.3 Säurehydrolyse	88
β <u>Die Alkaloide der drei Passiflora-Arten</u>	88
1. Methode der Extraktion und Vorbereitung der Extrakte zur Chromatographie	88
2. Chromatographische Methodik	89

	<u>Seite</u>
2.1 Vergleichssubstanzen	89
2.2 Papierchromatographie	89
2.3 Dünnschichtchromatographie	90
3. Versuche zur Anreicherung einzelner Alkaloide (<i>P. incarnata</i>)	92
4. Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen der Harman-Alkaloide in den drei <i>Passiflora</i> -Arten	93
4.1 Methode der Extraktion	93
4.2 Chromatographische Methodik	94
4.3 Vergleichssubstanzen	95
4.4 UV-Spektren der Vergleichssubstanzen	97
4.5 Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen der chromatographierten Vergleichssubstanzen und Berechnung des Korrekturwertes	99
4.6 Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen der Alkaloidfraktionen	101
4.6.1 <i>Passiflora incarnata</i>	101
4.6.2 <i>Passiflora quadrangularis</i>	102
4.6.3 <i>Passiflora pulchella</i>	103
VIII Zusammenfassung	104
IX Diskussion	106
Literaturverzeichnis	
Lebenslauf	

I Einleitung und Problemstellung

Zur Zeit sind etwa 400 Arten der Gattung *Passiflora* bekannt. Viele von ihnen werden schon lange in der Volksmedizin, z. B. in Südamerika, bei den verschiedensten Indikationen verwendet. Einige fanden Eingang in die Arzneibücher. Für Brasilien werden die Blätter von *P. alata* Ait., für Mexiko die blühenden Stengel von *P. dictamus* F.M.I. und *P. mexicana* Juss. vorgeschrieben.

Die am häufigsten beschriebene und am intensivsten untersuchte Art *P. incarnata* wurde in die Arzneibücher z. B. von Chile, Frankreich, Spanien und den USA aufgenommen. In Deutschland wurde sie im Homöopathischen Arzneibuch als "*Herba Passiflorae*" offizinell.

Die in neuerer Zeit zunehmende Verwendung in Arzneifertigpräparaten führt zu einem erhöhten Bedarf an dieser Droge, der aber nur unvollkommen aus Kulturen in den USA gedeckt werden kann. Dieser Umstand bringt es bei steigendem Drogenpreise mit sich, daß immer wieder versucht wird, andere Arten von *Passiflora* unter "*Herba Passiflorae*" in den Handel zu bringen.

Diese Ausführungen lassen die Notwendigkeit erkennen, eine übersichtliche Prüfmethode zu entwickeln, die alleine und auch zusätzlich zur botanischen Untersuchung von *P. incarnata* eingesetzt werden kann. Die morphologisch-anatomische Prüfung gestaltet sich in der Mehrzahl der Fälle einigermaßen schwierig, da die Droge in der Regel getrocknet und geschnitten im Handel ist. Die als charakteristisch angesehenen korkzieherartig eingerollten Ranken bilden nämlich für *P. incarnata* kein unverwechselbares Merkmal. Die zu erarbeitende Methode soll also die Identifizierung von *P. incarnata* sowie ihre Differenzierung von den vielfältigen weiteren Arten gestatten.

Bei dieser Problemstellung bieten sich zwei schon häufig eingesetzte Verfahren an, die Papier- und Dünnschichtchromatographie.

In der vorliegenden Arbeit beschäftigen wir uns mit der Frage, welche Inhaltsstoffe zur Charakterisierung von *P. incarnata* herangezogen werden können. In der Vergangenheit sind Alkaloide und Flavonoide als hauptsächliche Inhaltsstoffe erkannt worden. Insbesondere NEU (1954, 1956) sowie LUTOMSKI (1959, 1960) und AMBÜHL (1966) konnten 4 der Carbolin-Reihe zuzurechnende Alkaloide nachweisen.

Es soll der Versuch unternommen werden, ein für *P. incarnata* "typisches Muster" der Zusammensetzung ihrer Inhaltsbestandteile anzugeben. Zum Vergleich werden zwei weitere *Passiflora*-Arten auf ihre Führung von Inhaltsstoffen untersucht, nämlich *P. quadrangularis* und *P. pulchella*.

Die vergleichende phytochemische Untersuchung soll klären, ob sich die drei angeführten Arten in ihrer Inhaltsstoffführung unterscheiden. Falls sich die in *P. incarnata* nachgewiesenen Bestandteile der Alkaloid- und Flavonoidgruppe auch in den beiden weiteren Arten nachweisen ließen, könnten die folgenden Fragen zur Diskussion gestellt werden:

Ist die Spezies *P. incarnata* durch andere Arten austauschbar?

Könnten die beiden untersuchten Arten neben *P. incarnata* als "Herba *Passiflorae*" zugelassen werden?

Eine Anregung, uns mit den Flavonoiden und Alkaloiden von *Passiflora* zu befassen, erhielten wir durch die Veröffentlichung von LUTOMSKI et WROCINSKI (1960). Die genannten Autoren beschrieben sedative Wirkungen im Tierversuch sowohl für die Alkaloid- als auch für die Flavonoidfraktion von *P. incarnata*. Ebenso beobachtete FARNSWORTH (1966) eine Sedierung von Mäusen, die durch die Applikation einer Alkaloidzubereitung bewirkt wurde.

II Botanik der untersuchten Drogen

Die botanische Einordnung der Passiflorazeen ist in der Vergangenheit unterschiedlich vorgenommen worden. Nach ENGLER et BENSON wurden sie der Reihe der Violales zugeordnet, während WETTSTEIN et PULLE die Passiflorazeen zu den Parietales rechneten. Auch die Zuordnung zur Reihe der Passiflorales (HUTCHINSON) bzw. der Passiflorales mit den Cucurbitaceae (TAKHTAJAN) wird beschrieben, ref. ENGLER, 1964.

ENGLER (1964) kennzeichnet die Stellung der Passiflorazeen wie folgt:

Reihe:	Violales
Unterreihe:	Flacourtiineae
Familie:	Passifloraceae

Eine ausführliche Unterteilung in die zahlreichen Arten nahmen DE CANDOLLE (1826) und HARMS (1925) vor. Ausgehend vom Blütenbau teilten diese Untersucher die Gattung *Passiflora* in Sektionen und weiter in Subsektionen ein.

Danach finden sich *P. incarnata* und *P. quadrangularis* in der Sektion XII *Granadilla* DC, *P. incarnata* in der Subsektion 9, *Lobatae*, *P. quadrangularis* in der Subsektion 6, *Quadrangulares*. *P. pulchella* steht in der Sektion III *Decaloba*, Subsektion 6, *Pseudogranadilla* Harms.

Die Passifloraceae sind mit sproßbürtigen Blattranken kletternde Kräuter und Sträucher, seltener rankenlos oder windend. Ihre ansehnlichen Blüten sind aktinomorph, zwittrig oder eingeschlechtig mit ± kräftig entwickeltem Rezeptakulum. Zwischen Korolle und Staubgefäßen schiebt sich eine aus dem Rezeptakulum entspringende Nebenkrone (Corona) ein, die in Form einer zerschlitzten Röhre oder strahliger Fäden ausgebildet ist. Die Blüte besitzt oft einen langen Androgynophor. Die Bestäubung erfolgt durch Insekten und Kolibris.

Die etwa 400 Arten der Gattung *Passiflora* sind zumeist im tropischen Amerika verbreitet. Nur wenige Arten kommen im tropischen Asien, Polynisien und Australien vor. Eigene monotypische Gattungen sind in Neu-Guinea und Neuseeland beheimatet.

1. *Passiflora incarnata* L.

Synonyma: *Granadilla incarnata* Medic.

Passiflora edulis var. *kerii* Mast.

dtsch.: Fleischfarbene Passionsblume

engl.: Passion flower

Passiflora incarnata ist eine ausdauernde bis zu 10 m Höhe erreichende Kletterstaude. Der dünne runde Stengel ist zunächst grün, später grau. Er trägt wechselständige Blätter, die am Grunde des Blattstiels mit zwei 2 bis 8 mm langen hinfälligen Nebenblättern (*Stipulae*) besetzt sind. Die Blätter sind 6 bis 15 cm lang und meist 3lappig, manchmal auch unregelmäßig 5lappig; an der Basis sind sie etwa herzförmig gestaltet. Der Blattrand ist fein gesägt, die einzelnen Lappen scharf zugespitzt. Der Blattstiel und die Nervatur sind meist fein behaart. Aus den Blattachsen entspringen Ranken, deren Enden korkenzieherartig zusammengerollt sind.

Passiflora incarnata besitzt blattachselständige Blüten, die einzeln auf einem 6 cm erreichenden Blütenstiel sitzen. Die Blüte ist 6 bis 8 cm breit und hat eine erweiterte glockenförmige Achse, das Rezeptakulum. Die äußere Blütenhülle (*Involucrum*), die unterhalb der Kelchblätter sitzt, wird aus 3 Brakteen (1 Tragblatt, 2 Vorblätter) gebildet. Ein 5blättriger Kelch und 5 Kronblätter, die weiß oder blaß-lavendelfarben sein können sowie 5 Staubblätter und 3 Griffel mit verdickter Narbe kennzeichnen weiterhin die Blüte.

Die Korona ist sehr auffällig gestaltet. Sie besteht aus haarförmigen Fortsätzen, welche die Blütenachse kreuzförmig umgeben. Ihre Fäden sind innen weiß und außen purpurfarben. Der 3- bis 5blättrige oberständige Fruchtknoten ist einfächerig, er besitzt parietale Plazenten. Die Bestäubung erfolgt durch Insekten, vorzugsweise Hummeln (Bombophilie). Die Frucht ist eine ovale gelbliche etwa apfelgroße eßbare Beere.

Vorkommen:

P. incarnata ist hauptsächlich in den Vereinigten Staaten von Nordamerika verbreitet. Im Norden dringt sie etwa bis Missouri und Virginia vor, die südliche Grenze ihrer Heimat bilden Florida und Texas. Auch auf den Bermuda-Inseln ist sie beheimatet. In Deutschland ist *P. incarnata* nur in den wärmeren Gegenden im Freien kultivierbar.

Der volkstümliche Name *Passionsblume* wird verständlich dadurch, daß man vormals in ihren Blütenteilen die Werkzeuge der Leidenszeit Christi sah (FERRARI, 1633).

- a) Die 3spaltigen Blätter stellen die Lanzenspitze dar, mit der der Heiland am Kreuze verwundet wurde.
- b) Die Ranken entsprechen den Geißeln.
- c) Der Strahlenkranz bedeutet die Dornenkrone.
- d) Die 3 Narben symbolisieren die Kreuzesnägel.
- e) Die Staubbeutel stellen die Wundmale dar.

Der Gattungsname *Granadilla* (*G. incarnata* Medic.) läßt sich von der Ähnlichkeit der *Passiflora*-Früchte mit den Granatäpfeln herleiten.

2. *Passiflora quadrangularis* L.

Passiflora quadrangularis besitzt einen 4kantigen Stengel, der längliche bis eiförmige Blätter trägt, die mit 6 Blattstieldrüsen und großen Stipeln besetzt sind. Die hellroten Blüten mit blaugestreiften Strahlen haben ein breites glockenförmiges Rezeptakulum.

Vorkommen:

Passiflora quadrangularis ist im tropischen Amerika verbreitet.

3. *Passiflora pulchella* H. B. K.

Passiflora pulchella trägt die einzelnen Blüten mit 3 schmalen, meist zerstreut stehenden Involukralbrakteen. Sie hat 2lappige oder an der Spitze kurz 3lappige Blätter.

Vorkommen:

Passiflora pulchella ist im andinen Gebiet von Zentralamerika bis Ecuador sowie auf Hawaii verbreitet.

III Bisherige Untersuchungen über die Inhaltsstoffe der Gattung *Passiflora*

Vor etwa 140 Jahren beginnen die ersten Untersuchungen zur Aufklärung der Inhaltsstoffe, und zwar an südamerikanischen Arten. Es sind dies hauptsächlich *P. actinea* Hock, *P. alata* Ait., *P. edulis* Sims und *P. quadrangularis* L., sowie die als "*Maracuja incarnada*" bekannte *P. speciosa* Gardn.. Aus ihnen isolieren sowohl RICORD-MADIANA (1825) als auch später PECKOLT (1909) zwei Substanzen, das "Passiflorin" und das "Maracugin". Allerdings können diese nicht genau definiert werden, da sie wohl nicht rein erhalten werden. In

den Blättern und Wurzeln mehrerer Passifloren (z. B. *P. coerulea*, *P. quadrangularis* und *P. racemosa*) finden die Untersucher GUIGNARD (1906), SACK (1911), WEHMER (1911) und DOMINGUEZ (1919) ein Blausäure lieferndes Glykosid.

Bis zu dieser Zeit ist *P. incarnata* noch nicht untersucht worden. FELLOWS et SMITH (1938) gewinnen aus *P. incarnata* einen Stoff, der kein Alkaloid sein soll. RUGGY et SMITH (1940) fällen aus einem äthanolischen Auszug von *P. incarnata* ein Quecksilbersalz, dem die Formel $C_{10}H_{22}O_8N \cdot HgCl_2$ gegeben wird. Hierbei soll es sich weder um ein Alkaloid noch um ein Glykosid handeln.

NEUGEBAUER (1949) isoliert aus den Passiflora-Arten *P. incarnata*, *bryonioides*, *capsularis* und *edulis* eine Base, die mit dem "Maracugin" von PECKOLT (1909) und auch mit der von RUGGY et SMITH (1940) erhaltenen Substanz identisch sein soll. Ferner weist er nach, daß die in vielen Passifloren vorhandene cyanogene Substanz in *P. incarnata* nicht vorkommt. Diese Ergebnisse werden später von SCHINDLER (1960) und AMBÜHL (1966) bestätigt.

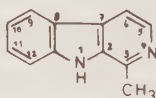
Bis zu diesem Zeitpunkt ist es noch nicht gelungen, eine Substanz in reiner Form aus den genannten Passifloren zu isolieren. Es liegen wohl immer nur Stoffgemische vor, die nur unzureichend charakterisiert werden können. Das Interesse richtet sich jetzt stärker auf *P. incarnata*, die z. B. in der amerikanischen Pharmakopöe und im Deutschen Homöopathischen Arzneibuch offizinell ist. Es stellt sich immer wieder die Frage, welcher oder welche Inhaltsstoffe für die spezifische Wirkung der Drogenzubereitungen verantwortlich zu machen sind.

In der Folgezeit gelingt es NEU (1954, 1956), aus *P. incarnata* eine Base zu isolieren, deren Löslichkeitsverhalten in verschiedenen Lösungsmitteln dem von PECKOLT (1909) isolierten "Passiflorin" ähnelt.

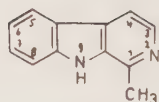
Dieses Alkaloid - HARMAN - kann in die Reihe der einfachen Carbolin-Basen eingeordnet werden.

Harman ist neben *P. incarnata* auch in *P. quadrangularis* nachgewiesen worden (NEU, 1954). Weitere Passiflora-Arten enthalten dieses Alkaloid ebenfalls (HESSE, 1964).

Später werden noch weitere Derivate der einfachen Carbolin-Basen aus *P. incarnata* isoliert. LUTOMSKI (1959) weist neben Harman noch Harmin und Harmol nach. Das Vorkommen von 2 Basen A und B unbekannter Konstitution wird beschrieben. Ein weiteres Alkaloid der Carbolinreihe, das Harmalin, wird von AMBÜHL (1966) in *P. incarnata* aufgefunden.



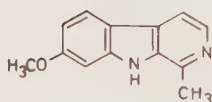
3-METHYL-4-CARBOLIN (Grundgerüst der Carbolin-Basen)



HARMAN

3-Methyl-4-carbolin

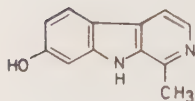
[1-Methyl-9H-pyrido(3,4-b)-indol]



HARMIN

11-Methoxy-3-methyl-4-carbolin

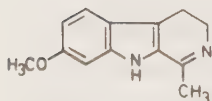
[7-Methoxy-1-methyl-9H-pyrido
(3,4-b)-indol]



HARMOL

11-Hydroxy-3-methyl-4-carbolin

[7-Hydroxy-1-methyl-9H-pyrido
(3,4-b)-indol]



HARMALIN

11-Methoxy-3-methyl-5,6-dihydro-4-carbolin

[4,9-Dihydro-7-methoxy-1-methyl-3H-pyrido
(3,4-b)-indol]

Das 3-Methyl-4-carbolin wurde bereits vorher aus zwei Pflanzen isoliert. Ohne die genaue Struktur zu kennen, wurde es als "Aribin" von RIETH (1861) aus der brasilianischen Rubiazee *Arariba rubra* Mart. erhalten.

HESSE (1878) gewinnt eine "Loturin" genannte Base aus der Lotur-Rinde von *Symplocos racemosa* (Symplocaceae). Erst SPÄTH (1919, 1920) gelang es aufzuklären, daß "Aribin" und "Loturin" identisch sind und 3-Methyl-4-carbolin darstellen.

Harmin und Harmalin, aber nicht Harman, wurden in der Steppenraute *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) aufgefunden (GOEBEL, 1841).

Harman, Harmin und Harmol kommen gemeinsam in *Zygophyllum fabago*, Zygophyllaceae, vor (BORKOWSKI, 1959).

Außer den genannten Alkaloiden lassen sich in *P. incarnata* noch flavonoide Verbindungen nachweisen. LUTOMSKI et WROCINSKI (1960) finden in einem aufgearbeiteten Alkoholextrakt 4 Flavonoide, die papierchromatographisch getrennt werden. Diesen Polyphenolderivaten sollen die Eigenschaften der eigentlichen Gerbstoffe fehlen. Genauere Angaben zur Konstitution dieser Flavonoide fehlen.

Das Vorkommen von Kämpferol und Quercetin in *P. coerulea* beschreibt TRONCHETE (1960). Bei der chromatographischen Analyse galenischer Zubereitungen von *P. incarnata* und *P. coerulea* stellt THEODOSSIOU (1965) je drei Flavonoide fest. Eines soll danach Rutin sein, das jedoch von AMBÜHL (1966) in Frage gestellt wird.

Auch SCHILCHER (1967)⁺⁾ bestätigt das Vorkommen von Flavonoiden und kann sechs Flavone unbekannter Konstitution isolieren.

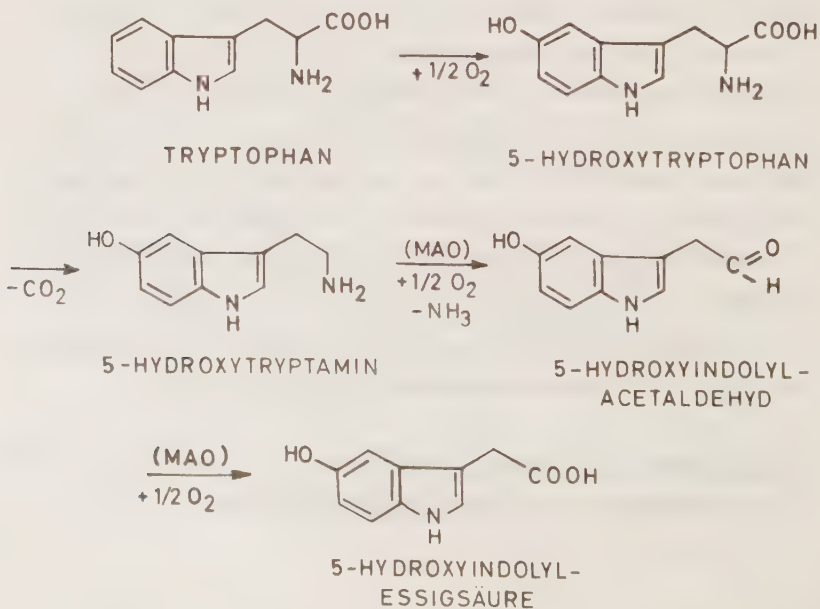
+) Von dieser Arbeit erhielten wir Kenntnis, als unsere eigenen Flavonoiduntersuchungen bereits abgeschlossen waren.

IV' Pharmakologie der Indol-Alkaloide vom Harman-Typ

Auf der Suche nach dem sedativ wirksamen Prinzip von *P. incarnata* wurden die Alkaloide Harman, Harmin, Harmol und Harmalin festgestellt. Im folgenden werden einige pharmakologische Wirkungen dieser Stoffgruppe aufgezeigt. Die Untersuchungsergebnisse werden zur Klärung der Frage herangezogen, inwieweit diese Alkaloide an der Sedativwirkung von *P. incarnata* beteiligt sein können.

Die vier Alkaloide der Harman-Reihe werden der Gruppe der Monoaminoxidase-(MAO)-Hemmer zugeordnet. Das Enzym MAO oxydiert zahlreiche Monoamine mit primärer oder sekundärer Aminogruppe zu Aldehyden (oxydative Desaminierung). Diese werden dann meistens weiter zu Carbonsäuren oxydiert.

Der Wirkungsmechanismus der MAO wird am Beispiel des 5-Hydroxytryptamins (Serotonin) aufgezeigt. Dieses entsteht aus Tryptophan und wird über den 5-Hydroxyindolylacetaldehyd zur 5-Hydroxyindolyl-essigsäure abgebaut.



5-Hydroxytryptamin wird als Überträgersubstanz an den Nervenendigungen betrachtet.

Wenn jetzt kurzwirkende, d.h. reversible Hemmer vom Typ der Harman-Reihe in diesen Vorgang eingreifen, so kommt es zu einem vorübergehenden Anstieg des Serotoninspiegels in einigen Teilen des Hirnstammes. Der Noradrenalin Spiegel wird ebenfalls im Sinne einer Erhöhung beeinflusst. Die Anreicherung des Serotonins bewirkt wiederum mehr oder minder ausgeprägte Depressionen.

Von den angeführten Alkaloiden ist das Harmin pharmakologisch am intensivsten untersucht worden (LEWIN, 1929; GUNN, 1935). In geringen Dosen bewirkt sein Hydrochlorid an Kaltblütern (Fischen) eine erhöhte Reflexerregbarkeit mit nachfolgender Lähmung der Extremitäten. Der Warmblüter reagiert mit anfänglicher Erregung, die nach etwa 10 Minuten in starkes Zittern übergeht, das bis zu 2 Stunden andauern kann. Eine Verminderung der Kontraktionen der meisten glatten Muskeln wird beobachtet. Darauf setzt eine allgemeine Narkose ein.

Die Wirkung des Harmins auf den Menschen wurde ebenfalls ausführlich untersucht.

In Dosen von 0,025 bis 0,075 g injiziert, bewirkt Harmin sogar eine auffallende Euphorie, z. T. auch Unsicherheit. Auch beeinflusst Harmin in geringen Dosen, ähnlich wie Atropin und Strychnin, das extrapyramidal-motorische System, das mit Schwindel, unsicherem Gang und Pulsverlangsamung reagiert. Ein leichter Blutdruckabfall wird beobachtet (GUNN, 1935). Auch Zähneklappern und Kinnbackenkrämpfe treten auf. In psychiatrischen Versuchen wird nach subkutaner Injektion von 0,2 g Harmin kein narkotischer Rausch beobachtet. Vielmehr tritt ein schwerer Kollaps ein, der mit ausgeprägter Pulsverlangsamung und exzessivem Erbrechen einhergeht. Trotz Gabe von Exzitantien

halten diese Symptome an, bis nach etwa 3 Stunden wieder normale Reaktionen beobachtet werden.

Giftige Dosen erzeugen klonische Krämpfe, denen Bewegungslähmungen, Atemlähmung und Temperaturabfall folgen. Durch die Schwächung des Herzmuskels entsteht eine Blutdrucksenkung, bis das Herz in der Diastole stillsteht.

Verwendung:

Harmin dient zur Muskelerregung bei Kranken, die an den Folgen der Encephalitis lethargica (Europäische Schlafkrankheit, Muskelstarre) leiden. Ebenso wird es in der Behandlung von Parkinson-Symptomen eingesetzt.

Harman, Harmol und Harmalin bewirken als MAO-Hemmer die schon bei Harmin beschriebenen Symptome. Harmalin ist etwa 2mal toxischer als Harmin. Die 2 H-Atome zusätzlich enthaltende Verbindung ist aktiver, aber im pharmakologischen Charakter gleichwertig.

Beim Übergang von den Äthern (Harmin, Hamalin) zu den korrespondierenden Phenolen (Harmol, Harmalol) nimmt die Fähigkeit ab, klonische Krämpfe zu erzeugen. Die Phenole bewirken vielmehr eine zunehmende Lähmung des Zentralnervensystems ohne anfängliche Stimulierung.

Faßt man die Hauptwirkungen der Harmanalkaloide nochmals zusammen, so ergeben sich die folgenden Aspekte:

1. Herz und Kreislauf

Die Koronargefäße werden erweitert, einhergehend mit einer Erniedrigung des Blutdruckes.

2. Muskulatur

Die glatte Muskulatur wird gelähmt.

3. Atmung

Nur bei der Applikation sehr geringer Dosen wird die Atmung stimuliert; im allgemeinen aber tritt eine Hemmung der Atmung ein, die bis zur Atemlähmung führen kann.

4. Zentralnervensystem

Die Beeinflussung des ZNS geht zunächst über ein Stadium der Stimulation, dem bei höheren Dosen optische Visionen und Zittern folgen. Klonische Krämpfe und schließlich Lähmung gewisser Zentren des Hirnstammes werden beschrieben.

Die Kenntnis von den physiologischen Wirkungen dieser Basen kann dennoch wenig dazu beitragen, die Frage nach dem sedierenden Effekt von *P. incarnata* befriedigend zu beantworten.

Zunächst muß festgehalten werden, daß die beschriebenen Wirkungen mit solchen Alkaloidkonzentrationen erzielt wurden, wie sie in *Passiflora*-Zubereitungen niemals vorliegen. In diesen sind sie etwa um den Faktor 10^3 bis 10^4 geringer. Auch haben die Alkaloide im pharmakologischen Versuch keine ausgesprochen sedativen Effekte gezeigt.

Danach darf man wohl die Indol-Alkaloide für die spezifische Wirkung von *P. incarnata* nicht als hauptsächlich verantwortlich betrachten. Es scheint nämlich, daß die Sedativwirkung der Alkaloidkonzentration nicht direkt proportional ist. Das kann man auch dem von PARIS (1963) im adäquaten Tierversuch durchgeführten Vergleich zweier *Passiflora*-Arten entnehmen. Hierbei stellte sich heraus, daß die alkaloidärmere *P. incarnata* intensiver sedierend wirkte als die alkaloidreichere *P. coerulea* (AMBÜHL, 1966).

Inwieweit nun die sedative Wirkung von *P. incarnata* auf die genannten Alkaloide zurückgeführt werden kann, läßt sich noch nicht endgültig sagen. Möglicherweise sind sie aber an der Wirkung beteiligt.

V Pharmakologie der Flavonoide

Nach LUTOMSKI et WROCINSKI (1960) soll eine Flavonoidzubereitung eines alkoholischen Extraktes von *P. incarnata* eine Sedierung von Mäusen und Schleienbrut bewirken.

Das Wirkungsspektrum der Flavonoide ist zwar breit gefächert und bisher wurden im physiologischen Versuch etwa 50 verschiedene Wirkungen festgestellt; dennoch liegt hier unseres Wissens der erste Fall vor, daß Flavonoide sich als sedativ wirksam erwiesen.

In der Volksheilkunde werden aber nicht nur echte Sedativa, sondern auch Drogen, die auf indirektem Wege den Schlaf begünstigen, wie z. B. Spasmolytika, als Beruhigungsmittel verwendet (HÄNSEL, 1965). In der folgenden Literatur-Übersicht sollen daher vor allem

1. Die Wirkung auf den Kreislauf
2. Die Wirkung auf die glatte Muskulatur

berücksichtigt werden. Als Beispiele werden nach Möglichkeit Verbindungen besprochen, die eine ähnliche chemische Struktur besitzen wie die von uns in *Passiflora*-Arten nachgewiesenen Flavonoid-C-Glykoside.

So senkt zum Beispiel Luteolin die Herzfrequenz und die Größe des Schlagvolumens, gemessen am isolierten Froschherzen. Auch eine leichte Blutdrucksenkung wird beschrieben. Diese soll durch eine geringfügige Gefäßerweiterung bewirkt werden (BÖHM, 1960).

Eine pharmakodynamische Wirkung an der glatten Muskulatur der Verdauungsorgane, der Bronchien und des Urogenitalsystems wird bei einigen Flavonoiden beobachtet. So bewirken höhere Rutin-Konzentrationen eine Muskeler schlaffung am isolierten Darmstreifen (WILSON et al., 1947). SORM et al. (1952) geben für Apigenin eine papaverinartige Spasmolyse am isolierten Intestinum an. Auch an

der spasmolytischen Wirkung von *Matricaria chamomilla* soll Apigenin beteiligt sein. Für Quercetin wird eine 5mal stärkere Spasmolyse als für Rutin beschrieben.

Nach HÖRHAMMER (1961) sollen Flavon-Glykoside schwächer spasmolytisch wirken als ihre Aglykone. Es wird angegeben, daß Quercetin sowie Apigenin und Luteolin am wirksamsten sind.

Wenn sich auch in den letzten Jahren die Überzeugung immer mehr durchsetzt, daß einigen flavonoiden Substanzen arzneiliche Wirkungen zukommen und diese für die Gesamtwirkung mancher Drogen verantwortlich zu machen sind (FLÜCK, 1958), so ist der für die Flavonoidfraktion von *P. incarnata* beschriebene Sedativeffekt zumindest zurückhaltend zu beurteilen.

Es wäre denkbar, daß den Flavonoiden von *P. incarnata* keine eigentlich sedative Wirkung zukommt. Vielmehr könnte man annehmen, daß die beobachtete Sedierung durch eine gewisse Spasmolyse der glatten Muskulatur eingeleitet und gefördert wird. Ob allerdings die in *P. incarnata*-Zubereitungen enthaltenen geringen Flavonoidkonzentrationen für die Sedativwirkung am Menschen verantwortlich gemacht werden können, ist bisher noch nicht untersucht worden.

VI Pharmakologische Wirkung und volksheilkundliche Verwendung von *Passiflora* sowie von Drogen mit verwandten Inhaltsstoffen

Lange Zeit sind die medizinischen Erfahrungen mit Zubereitungen aus *Passiflora* rein empirisch gewonnen worden. Die ersten pharmakologischen Untersuchungen werden von FELLOWS et SMITH (1938) unternommen, die aus *P. incarnata* eine Substanz mit blutdrucksenkender Wirkung isolieren können, ohne nähere Angaben über ihre

Konstitution zu machen. BORGATTI (1939) stellt bei Untersuchungen eine lähmende Wirkung von *P. incarnata*-Auszügen auf den Kainchendarm fest. Auch ein Antagonismus gegenüber Pilocarpin und Bariumchlorid wird beschrieben. Unter gleichen Bedingungen soll die Wirkung des Papaverins synergistisch verstärkt werden. Daraus läßt sich auf einen lähmenden Einfluß der Inhaltsstoffe auf die glatte Muskulatur schließen. Über blutdrucksenkende Eigenschaften wird an gleicher Stelle berichtet. Auch RUGGY et SMITH (1940) erhalten aus *P. incarnata* eine physiologisch wirksame Substanz unbekannter Zusammensetzung.

Die bis zu diesem Zeitpunkt geschilderten pharmakologisch-physiologischen Untersuchungen mit Extrakten von *Passiflora* lassen uns noch keine ausgeprägt sedierenden Eigenschaften des oder der Inhaltsstoffe erkennen, wie wir sie aus dem volksheilkundlichen Gebrauch z. B. von *P. incarnata* als Beruhigungsmittel annehmen müssen.

Erst dem Bericht von MARANGONI (1942) zufolge wird bei der Verwendung eines Fluidextraktes eine Sedierung von Ratten und Mäusen erzielt. Eine geeignete Methode, um die sedative Wirkung eines *Passiflora*-Auszuges zu testen, beschreibt IRRGANG (1942). Hier wird die Beweglichkeit von Mäusen vor und nach der subkutanen Applikation des Präparates im Zitterkäfig gemessen. Das Aufzeichnen der Bewegungen wird mit einem besonders empfindlichen Arbeitssammler vorgenommen. Dabei ergibt der Quotient aus der Beweglichkeit vor und derjenigen nach der Injektion einen Zahlenwert für die Wirkung der Drogezubereitung.

Die von MARANGONI (1942) erhaltenen Ergebnisse werden von NEUGEBAUER (1949) bestätigt. Die in Dosen von 400-, 800- und 1600 mg/kg an der Maus getestete Alkaloidfraktion von *P. incarnata* bewirkt eben-

falls eine schwache ZNS-Beruhigung (FARNSWORTH, 1966). Den gleichen Effekt an Mäusen beschreiben LUTOMSKI et WROCINSKI (1960).

In einem von PARIS (1963) angestellten Vergleich zwischen *P. incarnata* und *P. coerulea* sowie verschiedenen sedativ wirkenden Drogen wurden die Einflüsse auf die Bewegungen der Maus untersucht. Es wurden 10 g Droge pro kg Maus appliziert und die Einschränkung der Beweglichkeit gemessen. Dabei zeigte es sich, daß bei *P. incarnata* die Sedativwirkung langsamer als bei *P. coerulea* einsetzte, dafür aber wesentlich länger andauerte. Obwohl *P. coerulea* einen höheren Gehalt an Alkaloiden aufweist (AMBÜHL, 1966), ist *P. incarnata* vorzuziehen.

Die Wirkung von 10 g *P. incarnata* entsprach etwa 5 bis 10 g *Papaver rhoeas* und war etwas schwächer als die von 5 g *Rauwolfia*, bezogen auf kg Maus.

Bei einem Vergleich der Frischpflanzenverreibungen erzielte *P. incarnata* an der Maus eine dem Baldrian vergleichbare Sedativwirkung. Die Mittelwerte der verabreichten Dosen lagen für jede Droge bei 1,25 g/kg Maus. Es wurde die Spontanaktivität der Mäuse vor und nach der Applikation anhand eines Laufkäfigs ermittelt (KOCH, 1939).

Mehrere Arten der Gattung *Passiflora* finden seit langer Zeit in der Volksheilkunde Verwendung bei den verschiedensten Indikationen. Insbesondere *P. incarnata* hat den Ruf als Sedativum von zuverlässiger Wirkung erlangt.

Die ersten Angaben über eine Arzneimittelwirkung von *P. incarnata* stammen von SCHÖPF (1787). Danach wurde der Preßsaft der Stengel früher in Carolina gegen die Tollwut eingesetzt. Aufgrund ihrer guten

sedativen Wirkung wird *P. incarnata* 1875 von HALE in die amerikanische Homöopathie eingeführt. Über die Anwendung von *P. incarnata*-Auszügen bei der Schlaflosigkeit der Hysteriker, Neurastheniker und Alkoholiker berichtet auch STAPLETON (1904). *P. incarnata* scheint also neben einer beruhigenden auch eine ausgleichende und entkrampfende Wirkung zu entfalten.

In Brasilien sind neben *P. incarnata* verschiedene weitere Arten (z. B. *P. edulis*, *P. quadrangularis*) unter dem Namen "Maracuja" bekannt. Neben den als Nahrungsmittel dienenden Früchten liefern diese Arten mit dem Preßsaft ihrer Blätter und Wurzeln "morphin-ähnliche Tinkturen", die nicht nur narkotisch wirken, sondern auch als beliebte Beruhigungsmittel bei Bronchitiden und Asthma dienen (DA MATTA, 1913). Auch sie werden zur Behandlung der Neurasthenie und der nervösen Schlaflosigkeit verwendet (GUERTZENSTEIN, 1938). Zusammen mit dem Fruchtfleisch werden die Samen dieser *Passiflora*-Arten, die als mehr oder weniger giftig gelten, nach DE ANDRADE (1939) zu einem feinen Öl verarbeitet, das in niedrigen Dosen als Wurmmittel dient.

P. quadrangularis findet nur geringe arzneiliche Verwendung. Die frische Wurzel gilt als narkotisch und giftig; jedoch dient sie, gepulvert und mit Öl gemischt, zu erweichenden Kataplasmen (PITTIER, 1926).

P. incarnata wurde und wird hauptsächlich als Sedativum in der Volksmedizin verwendet. In dem bekannten Lehrbuch von MADDAUS (1938) wird die Häufigkeit der Anwendung von *P. incarnata* wie folgt aufgeschlüsselt:

- a) Schlaflosigkeit 49,2 %
- b) Entwöhnung von Narkotika
(Morphin, Nikotin, Alkohol) 15,8 %

c) Grippe	9,5 %
d) Neurasthenie	9,5 %
e) Neuralgien	8,0 %
f) Spastische Affektionen	8,0 %

P. incarnata wird überwiegend in Form von Fluidextrakten und Tinkturen verwendet. In Arzneifertigpräparaten findet sich *Passiflora* häufig in Kombination mit weiteren pflanzlichen Sedativa, wie Hopfen und Baldrian.

Für die Bereitung der Fluidextrakte und Tinkturen werden sowohl das getrocknete blühende Kraut (Chile, Frankreich, Spanien) als auch die frische Pflanze (Deutschland) vorgeschrieben.

In der Homöopathie ist der Gebrauch der Urtinktur und der Dilution (1 : 10) üblich. Eine Maximaldosis ist nicht festgesetzt worden.

Im folgenden wird auf zwei Pflanzen eingegangen, die, wie die Sedativdroge *Passiflora incarnata*, Alkaloide der Harman-Reihe enthalten. Es sind dies *Peganum harmala* und *Banisteria caapi*, die in der Heilkunde einiger Völker zur Gewinnung von Halluzinogenen dienen.

Peganum harmala

Die Steppenraute *Peganum harmala* - Zygophyllaceae - stellt einen Halbstrauch mit unregelmäßig zerschlitzten Laubblättern dar. Er trägt in den Blattachseln einzeln stehende grünlich-weiße ziemlich große Blüten. Die Früchte haben eine grubige außen schleimige schwärzliche Schale.

Peganum harmala ist vom östlichen Balkan bis nach Tibet verbreitet. Westlich davon sind nur einige versprengte Vorkommen bekannt, so in Ägypten, Italien und Spanien.

Schon in der arabischen Heilkunde waren die Samen der Steppenraute wegen ihrer betäubenden und berauschenden Wirkung beliebt. Vielfach wurden sie auch als Vermifugum gebraucht. Im 16. Jahrhundert wurde sie vereinzelt als Diuretikum sowie als beruhigendes und einschläferndes Mittel verwendet. Im Orient dienen die Samen noch heute als Rauschmittel, daneben auch als Gewürz und Farbstoffquelle (Türkisch-Rot = Harmalol). In den Pharmakopöen Italiens und Spaniens sind die "*Semen Harmalae sive Rutae silvestris*" officinell. Neben den Samen enthält auch das Kraut zahlreiche Harman-Alkaloide wie Harmin, Harmalin, Harmol und Harmalol, die für die Rauschwirkung verantwortlich sind. Eine aus den Samen bereitete Tinktur gilt als Diuretikum, Vermifugum und Emenagogum.

Banisteria caapi Spruce

Vom Amazonas im nördlichen Brasilien bis nach Kolumbien und Venezuela hinein erstreckt sich ein riesiges Urwaldgebiet, in dem die baumhohe Schlingpflanze *Banisteria caapi* Spruce beheimatet ist. Sie stammt aus der Familie der Malpighiaceae. Die Indios als die Ureinwohner dieses Gebietes nennen sie in der Quichuasprache, eine der vielen Idiome der dort Ansässigen, Ayahuasca. Dieser Ausdruck kann etwa folgendermaßen übersetzt werden: "Pflanze der Träume" oder "Wahrsagerbaum". Auch andere Deutungen wie "Wein des toten Mannes" oder "Zaubertrank der tiefen Träume" weisen schon auf die volkstümliche Verwendung dieser Liane hin.

Die Indios kennen und benutzen sie seit langem zur Bereitung eines berauschenden Trankes, Yagé genannt. Wenn auch vielen Forschern die Standorte dieser Pflanze gezeigt wurden, so enthielt man ihnen doch immer die genaue Zusammensetzung des Trankes vor. Obwohl *B. caapi* schon allein die nachfolgend beschriebenen Wirkungen zeigt, soll das Yagé-Getränk nicht einheitlich sein, sondern noch weitere

pflanzliche Rauschgifte enthalten. LEWIN (1927) zählt *B. caapi* zu den Phantastika, den Mitteln, die Sinnestäuschungen bewirken. Als Hauptwirkstoffe treten auch hier einige Harman-Alkaloide auf. Es wurden Harmin, Tetrahydroharmin und Harmalin isoliert.

Zubereitung des Rauschtrankes und seine Wirkungen

Die Zeremonie der Zubereitung des berauschenden Trankes findet gewöhnlich in der Nacht statt, da er zu dieser Zeit eine bessere Wirkung haben soll. Wir vermuten jedoch, daß das Tageslicht die Eingeborenen zu leicht von ihren Träumen ablenken würde. Die Indios verwenden dazu in der Regel die unteren gereinigten und zerkleinerten Teile der Liane, die in einer Menge von etwa 1 kg mit reichlich Wasser in einem größeren Behälter mehrere Stunden lang gekocht werden. Wenn der Absud auf etwa 250 ml eingedampft worden ist, enthält er zwischen 0,5 und 1 g Harmin. Häufig wird nur einer der Indios ausersehen, diesen Trank mit etwas Zuckerrohrbranntwein vermischt einzunehmen. Der Eintritt der gewünschten Wirkung hängt jetzt davon ab, wie schnell die Resorption in den oberen Darmabschnitten vor sich geht. Vielfach tritt allerdings kurzzeitiges Erbrechen ein, das den darauf eingenommenen Trank schneller zur Wirkung kommen läßt.

Dem Rausch geht ein Erregungsstadium voraus, das sich in Schreien und Tanzen offenbart und bis zu tobsuchtähnlichen Zuständen führt. Der Betreffende erlebt einen mit bunten Visionen erfüllten Wachtraum, der einem Rauschzustand gleichkommt. Weiterhin stellen sich Täuschungen des Gesichts- und Gehörsinnes ein, die der Berauschte als in Wirklichkeit vorhanden empfindet. Die Indios meinen, durch den Genuß des Lianen-Extraktes mit den Seelen der Verstorbenen in Verbindung treten zu können. Auch prophetische Gaben werden dem Berauschten zugesprochen. In seinem willenlosen Dämmerzustand wird

er an Orte geführt, an denen vergrabene Schätze oder verborgene Erze vermutet werden. Er soll dann darüber Auskunft geben können, ob es sich lohnen würde, an den betreffenden Stellen zu graben.

Der Mediziner gebraucht die Droge ebenfalls, um durch ihren Einfluß die richtige Medizin zur Behandlung Kranker zu finden.

Der so erzeugte Rausch wird von LEWIN (1927) als ein aus der Alltagswirklichkeit herausgerückter Seelenzustand bezeichnet, der dem Individuum auch Neues, Unfaßliches und Angenehmes bietet und ihm deshalb unentbehrlich geworden ist.

VII Eigene Untersuchungen

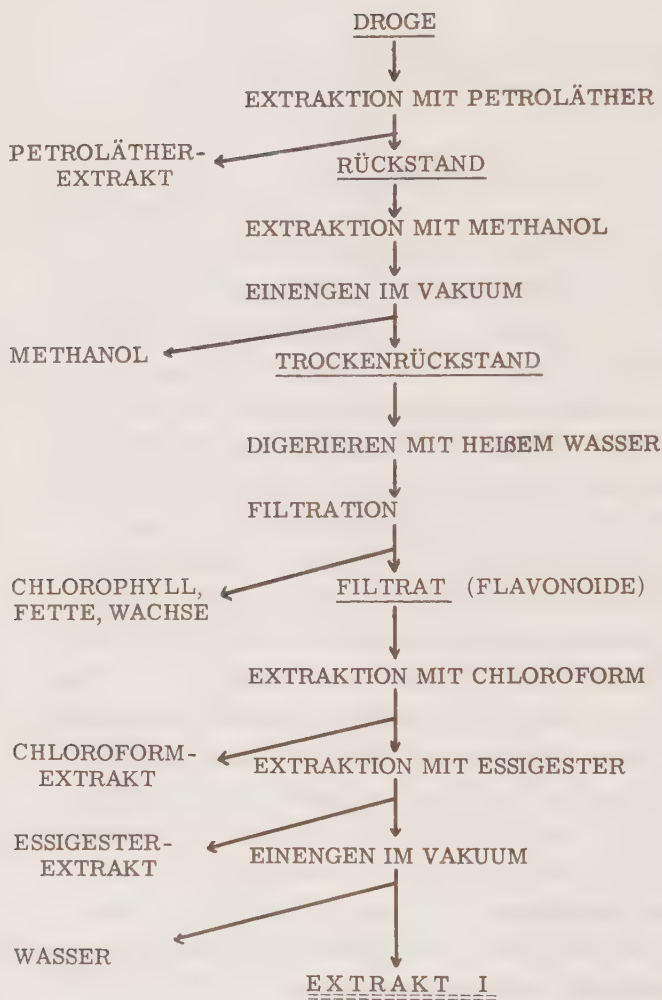
A Hauptteil

∞ Die Flavonoide der drei Passiflora-Arten

1. Extraktion der flavonoiden Substanzen

Das getrocknete und gemahlene Drogenmaterial wurde zur Entfernung lipophiler Begleitstoffe wie Fette und Wachse zunächst mit Petroläther (*P. quadrangularis* und *P. pulchella*) vorextrahiert. Bei *P. incarnata* stand uns ein methanolischer Extrakt zur Verfügung.⁺⁾ Dieser Weg wird häufig bei der Extraktion von Flavonglykosiden beschritten (GEISSMAN, 1955). Die weitere Behandlung wurde mit Methanol vorgenommen. Da aber auf diese Weise meist noch größere Mengen Chlorophyll und Kohlenhydrate mitextrahiert werden, entfernt man diese am besten vor der weiteren Aufarbeitung, da sie sich nachteilig für die Stoffabscheidung auswirken können. Dazu wurde der methanolische Extrakt im Vakuum bis zur dickflüssigen Konsistenz eingedampft. Der Rückstand wurde wiederholt mit heißem Wasser digeriert, wobei neben den Kohlenhydraten die Flavonglykoside in Lösung gehen. Die Begleitstoffe wie Chlorophyll und evtl. noch enthaltene Fette und Wachse bleiben dabei ungelöst und lassen sich durch Filtration oder Zentrifugieren entfernen. Anschließend wurde die wäßrige Lösung mit Chloroform und Essigester ausgeschüttelt. In die organischen Phasen ging ein Teil der Flavonoide (vor allem Aglyka) über, während der größere Teil neben Kohlenhydraten und weiteren Begleitstoffen in der wäßrigen Phase zurückblieb. Nach dem Einengen im Vakuum wurden sie in Methanol aufgenommen und auf eine Konzentration von 2,5 % Trockenextrakt gebracht. Diese Lösungen dienten zur chromatographischen Analyse.

⁺⁾ Die Herkunft dieses Extraktes siehe Seite 75



DARSTELLUNG DER FLAVONOIDFRAKTIONEN (EXTRAKT I) DER
DREI PASSIFLORA-ARTEN

2. Flavon-Nachweis durch Tüpfelreaktionen

Die nachstehenden Tüpfelreaktionen wurden ausgeführt, um das Vorliegen von flavonoiden Verbindungen zu bestätigen.

a) Mit der Reduktionsprobe nach SHINODA (1928) - Magnesium und Salzsäure - werden Flavone, Flavonole, Flavanone und 3-Hydroxyflavanone zu $\pm$ rot gefärbten Verbindungen reduziert. Die Extrakte I der drei *Passiflora*-Arten ergaben orange-rote Färbungen.

b) Durch die Reaktion mit methanolischer Eisen-III-chloridlösung können phenolische Substanzen nachgewiesen werden, die eine zur phenolischen Hydroxygruppe benachbarte und zur Komplexbildung geeignete Gruppe enthalten (z. B. 3- und 5-Hydroxyflavone, Orthodihydroxygruppierungen im Flavon-Ring B).

Der Extrakt I von *P. incarnata* wurde dunkelgrün gefärbt, der Extrakt I von *P. quadrangularis* wurde gelb-grün und der Extrakt I von *P. pulchella* wurde braun-grün gefärbt.

c) Beim Alkalisieren mit 1%iger Kalilauge wurden die Extrakte I der drei Arten intensiv gelb gefärbt.

3. Chromatographische Methodik

3.1 Eindimensionale Papierchromatographie

Die zur Chromatographie vorbereiteten methanolischen Lösungen der Extrakte I wurden zu einer ersten Orientierung auf Papier aufgetragen und in den Laufmittelgemischen Butanol - Eisessig - Wasser (4 : 1 : 5, Oberphase) sowie in 15 %iger Essigsäure entwickelt. Die Reinsubstanzen Apigenin - 7 - glucosid, Luteolin - 7 - glucosid, Quercetin und Rutin liefen jeweils auf dem gleichen Papier mit. Da-

bei stellten wir folgendes fest:

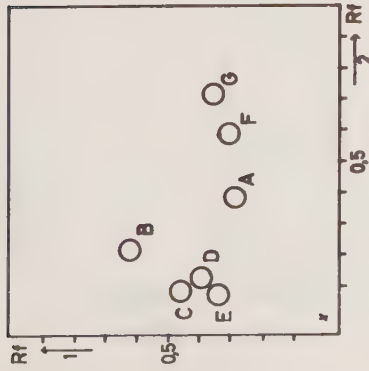
In den Extrakten I waren mehrere Flecken enthalten, deren Rf-Werte Rutin, Apigenin - 7 - glucosid und Quercetin vergleichbar waren. Flecken der Chloroform- und Essigesterphasen ähnelten z. B. dem Quercetin in der Laufhöhe.

Mit der eindimensionalen Papierchromatographie in den o. a. Gemischen konnten allerdings keine zufriedenstellenden Trenneffekte erzielt werden, da sich die Polaritäten der Aglyka einerseits und der Glykoside andererseits in starkem Maße ähnelten. Die Flecken waren langgezogen und lagen teilweise übereinander.

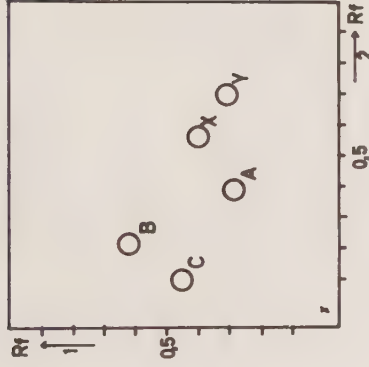
3.2 Zweidimensionale Papierchromatographie

Es wurde der Versuch unternommen, mit Hilfe dieser Methode eine übersichtlichere Auftrennung der Extrakte zu erhalten. Dazu wurden mehrere Laufmittelpaare entwickelt, wobei sich die folgenden als die am besten geeigneten erwiesen:

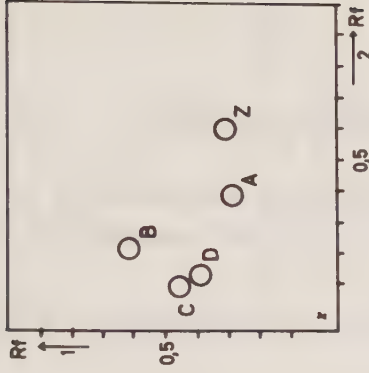
In der ersten Dimension wurde mit der Oberphase des Gemisches Butanol - Eisessig - Wasser (4 : 1 : 5) bzw. Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3), in der zweiten Dimension jeweils mit Eisessig - Wasser (3 : 97) entwickelt.



P. incarnata



P. quadrangularis

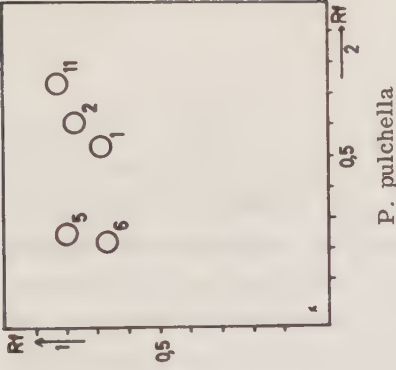
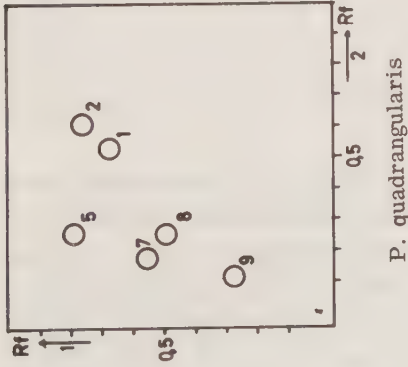
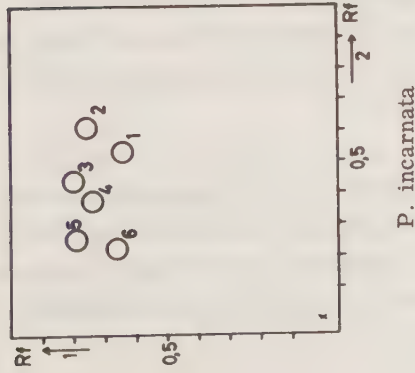


P. pulchella

Typische zweidimensionale Papierchromatogramme von Methanol-Extrakten der drei
Passiflora-Arten

System 1: Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3)

System 2: Eisessig - Wasser (3 : 97)



Typische zweidimensionale Dünnschichtchromatogramme von Methanol-Extrakten der drei Passiflora-Arten

System 1: Benzol - Methanol - Wasser (15 : 37 : 1, 5)

System 2: Essigester - Äthanol (20 : 30)

3.4 Vergleichssubstanzen

Die Vergleichssubstanzen (siehe S.78) wurden sowohl einzeln für sich als auch auf demselben Papier wie die Extrakte aufgetragen. Ihre Rf-Werte wurden ermittelt und mit denen der Extraktbestandteile verglichen. Auch wurden die Flecken der Reinsubstanzen auf Transparentpapier durchgezeichnet, das als Schablone einen Vergleich mit den Flecken der chromatographierten Extrakte ermöglichte.

3.5 Flavon-Nachweis durch Sprühreagenzien

Einen weiteren Hinweis auf das Vorhandensein flavonoider Verbindungen erhielten wir durch die nachstehenden Sprühreagenzien. Die auf dem Papier- und Dünnschichtchromatogramm im ultravioletten Licht der Quarzlampe rötlich-braunen Flecken der Extrakte I wurden durch Besprühen mit einer methanolischen Aluminiumchloridlösung zu gelber Fluoreszenz angeregt. Das gleiche Verhalten zeigten die mitgelaufenen Reinsubstanzen.

Das Naturstoffreagenz A nach NEU (STAHL, 1967), eine 1%ige äthanolische Diphenylborsäure- β -aminoäthylesterkomplexlösung, bewirkte nach dem Besprühen der PC und DC der Extrakte I gelb bis gelb-grün fluoreszierende Flecken.

Die Ergebnisse der Tüpfelreaktionen, das chromatographische Verhalten der Extrakt I-Bestandteile sowie deren Anfärbarkeit durch die genannten Sprühreagenzien bestätigten das Vorliegen flavonoider Substanzen. Nach ihren Rf-Werten waren sie sowohl den Aglyka als auch den Glykosiden zuzuordnen.

Im Verlaufe unserer Untersuchungen konnten wir zeigen, daß das von THEODOSSIOU (1965) angenommene Vorkommen von Rutin chromatographisch nicht bestätigt werden konnte.

Weiterhin bemühten wir uns, die von TRONCHETE (1960) in einigen Passiflorazeen nachgewiesenen Flavonoide Kämpferol und Quercetin aus unseren Drogen zu reproduzieren. Beide Substanzen waren genuin als Aglyka nicht in den geprüften Extrakten aufzufinden. Wenn aber Glykoside des Kämpferols und Quercetins in den Passiflora-Extrakten vorhanden waren, so sollten sich ihre Aglyka nach der Hydrolyse darin nachweisen lassen. Zur Klärung dieser Frage wurden deshalb Kämpferol-3-glucosid, Quercetin-3-rutinosid (Rutin) sowie die Extrakte I hydrolysiert.

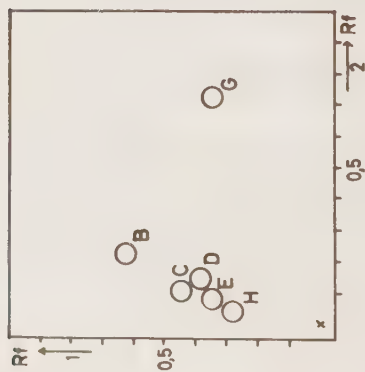
4. Hydrolysen von Kämpferol-3-glucosid, Quercetin-3-rutinosid und der Extrakte I

Je 20 mg der drei Passiflora-Extrakte I sowie je 5 mg Kämpferol-3-glucosid und Quercetin-3-rutinosid wurden der Hydrolyse mit 2n Salzsäure unterworfen. Die Aufarbeitung erfolgte wie auf Seite 84 beschrieben.

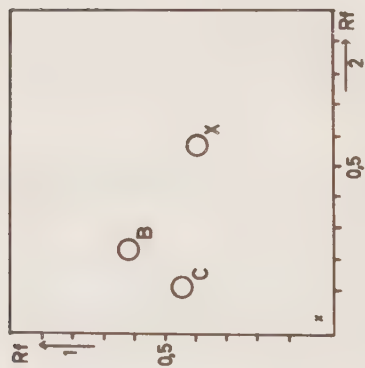
5. Chromatographie der hydrolysierten Substanzen

5.1 Zweidimensionale Papierchromatographie

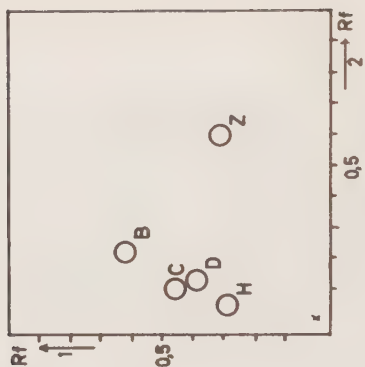
Als Ergebnis waren Kämpferol und Quercetin in den hydrolysierten Proben der Extrakte I pc nicht nachweisbar.



P. incarnata



P. quadrangularis



P. pulchella

Typische zweidimensionale Papierchromatogramme von hydrolysierten Methanol-
Extrakten der drei *Passiflora*-Arten

System 1: Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3)

System 2: Eisessig - Wasser (3 : 97)

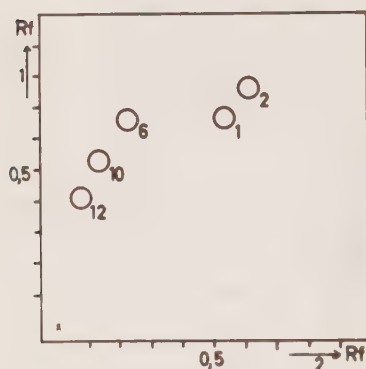
Zusammenstellung der Flavonoidflecken (PC)

Tabelle 2

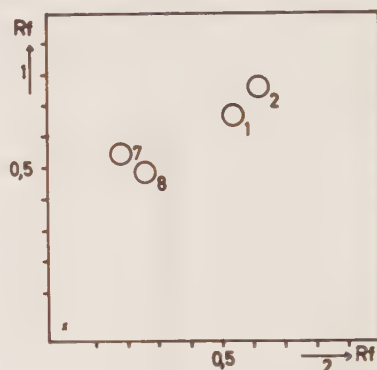
	Anzahl	vor der Hydrolyse	Anzahl	vor der Hydrolyse
<i>P. incarnata</i>	(7)	A, B, C, D, E, F, G,	(6)	- , B, C, D, E, - , G, H
<i>P. quadrangu- laris</i>	(5)	A, B, C - - - X, Y	(3)	- , B, C - - - X
<i>P. pulchella</i>	(5)	A, B, C, D, - - - Z	(5)	- , B, C, D, - - - H, - Z

5.2 Zweidimensionale Dünnschichtchromatographie

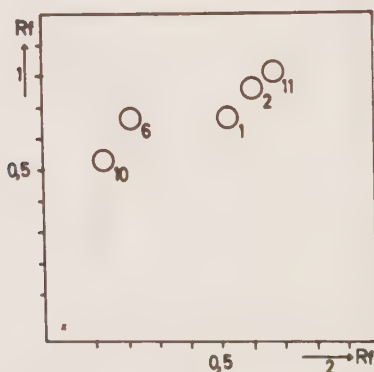
Auch da ließen sich Kämpferol und Quercetin in den Extrakten I nicht nachweisen.



P. incarnata



P. quadrangularis



P. pulchella

Typische zweidimensionale Dünnschichtchromatogramme von hydrolysierten Methanol-Extrakten der drei Passiflora-Arten

System 1: Benzol - Methanol - Wasser (15 : 37 : 1,5)

System 2: Essigester - Äthanol (20 : 30)

Zusammenstellung der Flavonoidflecken (DC)

Tabelle 3

	Anzahl	vor der Hydrolyse	Anzahl	nach der Hydrolyse
P. incarnata	(6)	1, 2, 3, 4, 5, 6	(4)	1, 2, 6, - - 10, - 12
P. quadrangu- laris	(6)	1, 2, - - 5, - 7, 8, 9,	(4)	1, 2, -, 7, 8
P. pulchella	(5)	1, 2, -, -, 5, 6	(5)	1, 2, 6, -, - - 10, 11

Bei der chromatographischen Prüfung der hydrolysierten Extrakte I im Vergleich zu den ursprünglichen, stellten wir folgendes fest:

Die meisten der im Extrakt I vor der Hydrolyse beobachteten Flecken waren nach der Hydrolyse noch vorhanden. Wie den Tabellen 2 und 3 zu entnehmen ist, war nur in wenigen Fällen das Verschwinden eines Glykosidfleckens und das Auftreten eines weiteren Aglykons zu beobachten.

Insbesondere wurde das in jeder der drei Arten vorhandene Flavonoid A (Nr. 5) nach der Hydrolyse nicht mehr aufgefunden. Hier handelt es sich offenbar um ein leicht zu spaltendes Glykosid. Der neu aufgetretene Fleck H (Nr. 6) war nur bei *P. incarnata* und *P. pulchella* zu beobachten.

Das Ergebnis der Hydrolyse sprach also dafür, daß die Mehrzahl der chromatographisch nachgewiesenen Flavonoide den Aglyka zugezählt werden mußten, da sie sich nach der Hydrolyse unverändert nachweisen ließen. Andererseits ließen die in Tabelle 4 zusammengefaßten Rf-Werte die Hydrophilität der aufgefundenen Flavonoide erkennen.

Tabelle 4

Rf-Werte der Flecken A bis H sowie X bis Z

Fleck	Rf - Wert im System	
	I	II
A	0,29	0,39
B	0,62	0,22
C	0,45	0,10
D	0,39	0,13
E	0,35	0,08
F	0,30	0,59
G	0,35	0,73
H	0,30	0,05
X	0,40	0,56
Y	0,30	0,70
Z	0,31	0,60

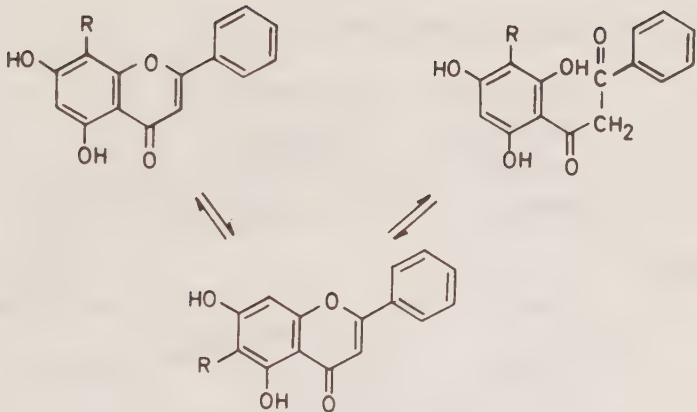
Papierchromatographie; I Essigester - Ameisensäure - Wasser (10:2:3)
II Eisessig - Wasser (3:97)

Es war möglich, daß die meisten Flavonoide zwar in glykosidischer Form vorlagen, ihre Aglyka aber unter den Bedingungen der Säurehydrolyse nicht freigesetzt wurden.

Nach den Ergebnissen der Hydrolyse war das Vorliegen einer O-Glykosidstruktur, die z. B. für die Flecken A und F angenommen wurde, für die Mehrzahl der Substanzen nicht mehr wahrscheinlich. Aus meinen bisherigen Untersuchungen konnte nun geschlossen werden, daß es sich bei den sieben pc nachgewiesenen Flavonoiden (*P. incarnata*) um mindestens ein O-Glykosid und evtl. sechs

C-Glykoside handeln könnte.

Es war für diese Flavonoide eine C-Glykosidform zu diskutieren, wie sie in der Literatur schon mehrfach beschrieben worden ist (SEIKEL et GEISSMAN, 1957; BRIGGS et CAMBIE, 1958; HÖRHAMMER et Mitarb., 1959; SEIKEL et BUSHNELL, 1959; KOEPPEN, SMIT et ROUX, 1962; HÄNSEL et RIMPLER, 1963; KOEPPEN, 1964; KOEPPEN et ROUX, 1964). Die C-Glykoside erleiden unter den Bedingungen der sauren Hydrolyse keine Spaltung in Zuckeranteil und Aglykon, sondern gehen Isomerisierungen ein, die durch die Säure katalysiert werden. Hierbei handelt es sich um Gleichgewichtsreaktionen, die nach längerer Säurebehandlung eintreten und umkehrbar sind. Die Isomerisierungen wurden verschieden gedeutet. SEIKEL et GEISSMAN (1957) nahmen an, daß sich die Zucker-Seitenkette aus der zyklischen Äther-Form in eine offene Form umlagert, die zwei zusätzliche OH-Gruppen enthält. Nach KOEPPEN (1964) sollte es sich um die Inversion eines C-Atoms der zyklischen Seitenkette handeln, analog der Transformation von D-Glucopyranose zu D-Galaktopyranose. KOEPPEN et ROUX (1964) sowie HOROWITZ et GENTILI (1964) wiesen dann eindeutig nach, daß die 5-Hydroxy-Flavone eine Wessely-Moser-Umlagerung erleiden. Dabei stehen die beiden Isomeren mit einem β -Diketon im Gleichgewicht. Es resultiert, daß eine C-Glykosylierung in 6- oder 8-Stellung des A-Ringes des Flavonmoleküls formuliert werden muß.



6. Papierchromatographische Gegenüberstellung der Vergleichs-
substanzen mit den Flecken A bis H

Um die Annahme zu verifizieren, daß es sich bei den aufgefundenen
Flavonoiden um C-Glykoside handeln könnte, wurden die folgenden
C-Glykoside und ihre Aglyka⁺⁾ zum Vergleich herangezogen:

- a) Homo-Orientin
- b) Orientin
- c) Saponaretin
- d) Saponarin
- e) Vitexin

Beim Vergleich der R_f-Werte dieser Reinsubstanzen mit denen der
Flecken der Passiflora-Extrakte I stellten wir fest, daß eine gute

⁺⁾ Herkunft siehe S. 78

Übereinstimmung bei folgenden bestand:

Homo-Orientin	und Fleck D
Saponaretin	und Fleck B
Saponarin	und Fleck A
Vitexin	und Fleck C

Tabelle 5

	Rf - Werte im					
	System I		System II		System III	
	1. Dim.	2. Dim.	1. Dim.	2. Dim.	1. Dim.	2. Dim.
Homo-Orientin (Fleck D)	0,41	0,13	0,41	0,072	0,39	0,13
Saponaretin (Fleck B)	0,60	0,22	0,60	0,13	0,62	0,22
Saponarin (Fleck A)	0,33	0,39	0,33	0,26	0,29	0,39
Vitexin (Fleck C)	0,42	0,10	0,42	0,035	0,45	0,10

I 1. Dim. Butanol - Eisessig - Wasser (4:1:5)

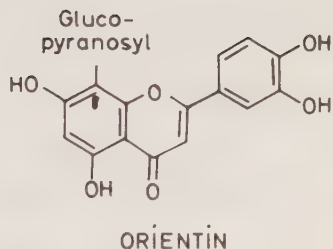
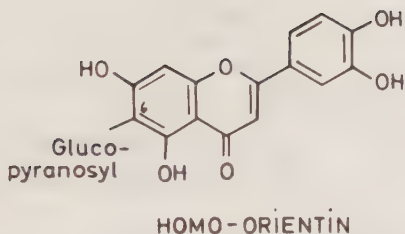
2. Dim. Eisessig - Wasser (3:97)

II 1. Dim. Butanol - Eisessig - Wasser (4:1:5)

2. Dim. 3 %ige wässrige NaCl-Lösung

III 1. Dim. Essigester - Ameisensäure - Wasser (10:2:3)

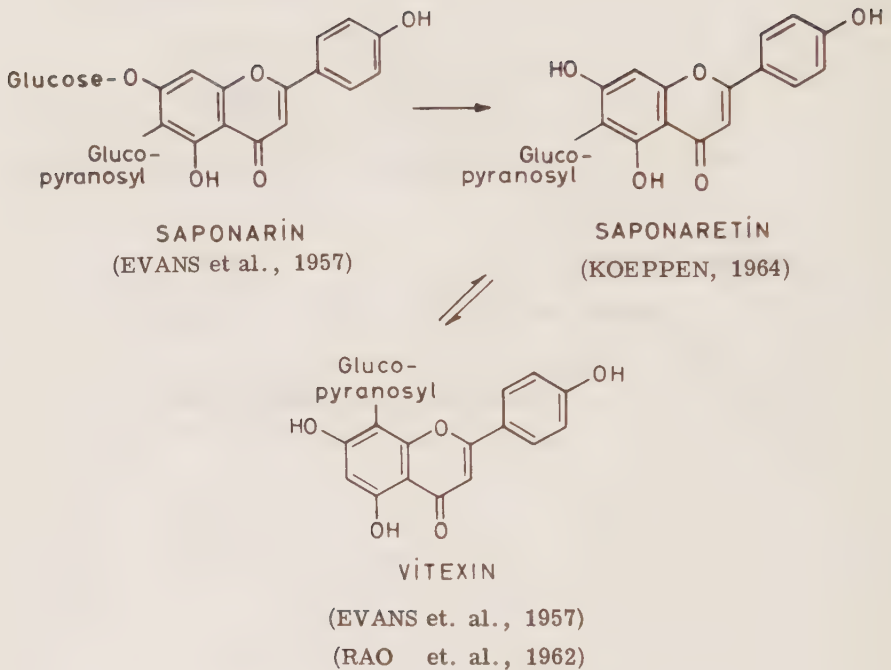
2. Dim. Eisessig - Wasser (3:97)



(HOROWITZ et GENTILI, 1964)

6.1 Identifizierung von Fleck A, B und C

Von der Annahme ausgehend, daß der Fleck A mit Saponarin identisch sein könnte, wurde eine Probe Saponarin den gleichen Hydrolysebedingungen unterworfen wie die Extrakte I und anschließend chromatographiert. Das authentische Saponarin war quantitativ zu den beiden isomeren Verbindungen Saponaretin und Vitexin hydrolysiert und isomerisiert worden.



Ebensowenig wie Saponarin war der Fleck A nach der Hydrolyse chromatographisch nachzuweisen. Die beiden Isomerisierungsprodukte von Fleck A waren mit zwei weiteren pc erkannten Flecken, nämlich Saponaretin und Vitexin, identisch. Fleck A entsprach also dem Saponarin.

Tabelle 6

		Rf - Werte im			
		System I		System III	
		1. Dim.	2. Dim.	1. Dim.	2. Dim.
Fleck A hyd.  (Saponarin hyd.)	Fleck B (Saponaretin)	0,60	0,22	0,62	0,22
	Fleck C (Vitexin)	0,42	0,10	0,45	0,10

I 1. Dim. Butanol - Eisessig - Wasser (4 : 1 : 5)

2. Dim. Eisessig - Wasser (3 : 97)

III 1. Dim. Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3)

2. Dim. Eisessig - Wasser (3 : 97)

In den drei Passiflora-Arten waren also Saponaretin und Vitexin vorhanden.

6.2 Identifizierung von Fleck H und D

Der nach der Hydrolyse der Extrakte I nur bei *P. incarnata* und *P. pulchella* nachweisbare Fleck H (Nr. 10) wies das gleiche chromatographische Verhalten auf wie das Orientin, das aus einer Probe Homo-Orientin unter den Bedingungen der Säurehydrolyse entstand.

Tabelle 7

Rf - Werte im						
	System I		System II		System III	
	1. Dim.	2. Dim.	1. Dim.	2. Dim.	1. Dim	2. Dim.
Fleck H	0,36	0,05	0,36	0,04	0,30	0,05
Orientin	0,36	0,05	0,36	0,04	0,30	0,05

Papierchromatographie;

Systeme siehe Tab. 5, Seite 51

Auch dc ergab sich eine Übereinstimmung zwischen Fleck H und Orientin.

Tabelle 8

Rf - Werte im		
	System I	System II
Fleck H (Nr.10)	0,53	0,14
Orientin	0,53	0,14

Polyamid-Zellulose

I Benzol - Methanol - Wasser (15 : 37 : 1,5)

II Essigester - Äthanol (20 : 30)

Als Gleichgewichtsreaktion war zu deuten, daß Homo-Orientin neben dem neu aufgetretenen Orientin chromatographisch nachweisbar blieb. Homo-Orientin wies in mehreren Systemen die gleichen Rf-Werte wie der Fleck D (Nr. 6) auf. Dieser wurde nur bei *P. incarnata* und *P. pulchella* beobachtet. Durch den Nachweis von Orientin, das genuin

in den Extrakten I dieser Arten nicht nachgewiesen werden konnte, wurde das Vorkommen von Homo-Orientin noch zusätzlich bestätigt.

7. Dünnschichtchromatographische Gegenüberstellung der Vergleichssubstanzen mit den Flecken 1 - 12

Die folgende Tabelle zeigt die Zuordnung der dc erkannten Flecken.

Tabelle 9

	Rf - Werte im			
	System I		System II	
	1. Dim.	2. Dim.	1. Dim.	2. Dim.
Homo-Orientin (Fleck Nr. 6)	0,66	0,23	0,45	0,19
Orientin (Fleck Nr. 10)	0,53	0,14	0,39	0,08
Saponaretin (Fleck Nr. 1)	0,67	0,54	0,66	0,42
Saponarin (Fleck Nr. 5)	0,79	0,26	0,55	0,31
Vitexin (Fleck Nr. 2)	0,76	0,62	0,70	0,51

Polyamid-Zellulose

System I 1. Dim. Benzol - Methanol - Wasser (15 : 37 : 1,5)
 2. Dim. Essigester - Äthanol (20 : 30)

System II 1. Dim. Chloroform - Äthanol - Wasser (15 : 20 : 1)
 2. Dim. Essigester - Methyläthylketon - Äthanol (7 : 5 : 10)

Orientin (Nr. 10) wurde nach der Hydrolyse der Extrakte I nur bei *P. incarnata* und *P. pulchella* gefunden. Diese Ergebnisse wurden noch durch die DC an Kieselgel G belegt (siehe Seite 80).

8. Ergebnisse der Chromatographie

Tabelle 10

Untersuchungsmaterial	identifizierte Verbindung
<i>P. incarnata</i>	Homo-Orientin Saponaretin Saponarin Vitexin
<i>P. quadrangularis</i>	Saponaretin Saponarin Vitexin
<i>P. pulchella</i>	Homo-Orientin Saponaretin Saponarin Vitexin

9. Versuche zur Anreicherung einzelner Flavonoide (*P. incarnata*)

Zur weiteren Bestätigung der aus den papier- und dünnschichtchromatographischen Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse sollte versucht werden, einige der nachgewiesenen Substanzen zu isolieren. Dazu gingen wir zunächst wie schon auf Seite 34 beschrieben vor. Es wurde eine größere Menge gepulvertes Drogenmaterial eingesetzt. Die Fraktionen Ia, Ib und Iz (siehe S. 82) wurden nach pc Prüfung verworfen, da sie keine flavonoiden Bestandteile enthielten. Die am reinsten erhaltene Fraktion Iib enthielt hauptsächlich Saponarin, außerdem Saponaretin und wenig Vitexin.

Zur weiteren Anreicherung wurden deshalb noch 8 Polyamidsäulen bereitet, auf denen je 14 g Extrakt I aufgetrennt wurden. Jeweils die Fraktionen Iib wurden vereinigt, im Vakuum eingengt und erneut an einer 100 g-Polyamidsäule chromatographiert.

Ergebnisse:

Die in den Fraktionen II b/4 und II b/5 angereicherten Flavonoide entsprachen Saponarin und Vitexin bzw. Saponaretin (siehe Tab. 18 S. 84).

Nach der sauren Hydrolyse der Fraktion II b/4 war das enthaltene Saponarin quantitativ zu Saponaretin und etwas Vitexin isomerisiert worden. Das in der Fraktion II b/5 enthaltene Saponaretin wurde teilweise zu Vitexin umgelagert.

Wie schon SEIKEL et al. (1966) beschrieben, lassen sich Flavon-C-Glykoside recht mühsam voneinander trennen und sind schwer zu kristallisieren. In einem Falle gelang es uns aber, aus der Fraktion II b/5 das Saponaretin kristallin zu erhalten (s.S. 86).

Das UV-Spektrum von Saponarin (aus *P. incarnata*) stimmt mit authentischem Saponarin im Bereich von 220 bis 350 nm überein.

Die UV-Spektren von Saponaretin (aus *P. incarnata*) und authentischem Saponaretin sind im Bereich von 220 bis 360 nm identisch.

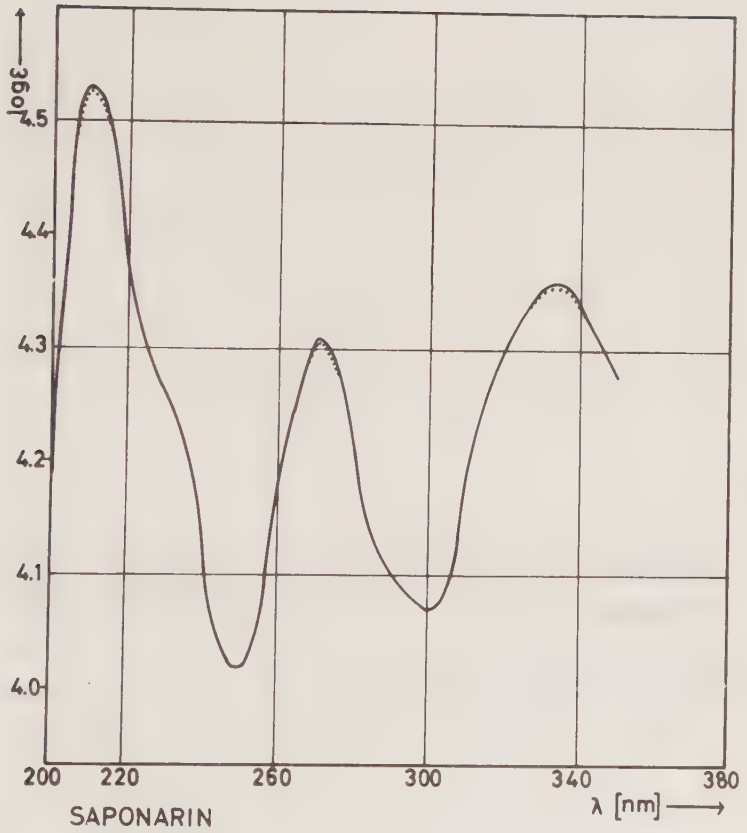
Vom isolierten Saponaretin wurde ein IR-Spektrum aufgenommen.

10. Zur Jod-Reaktion der "löslichen Stärke" nach DUFOUR

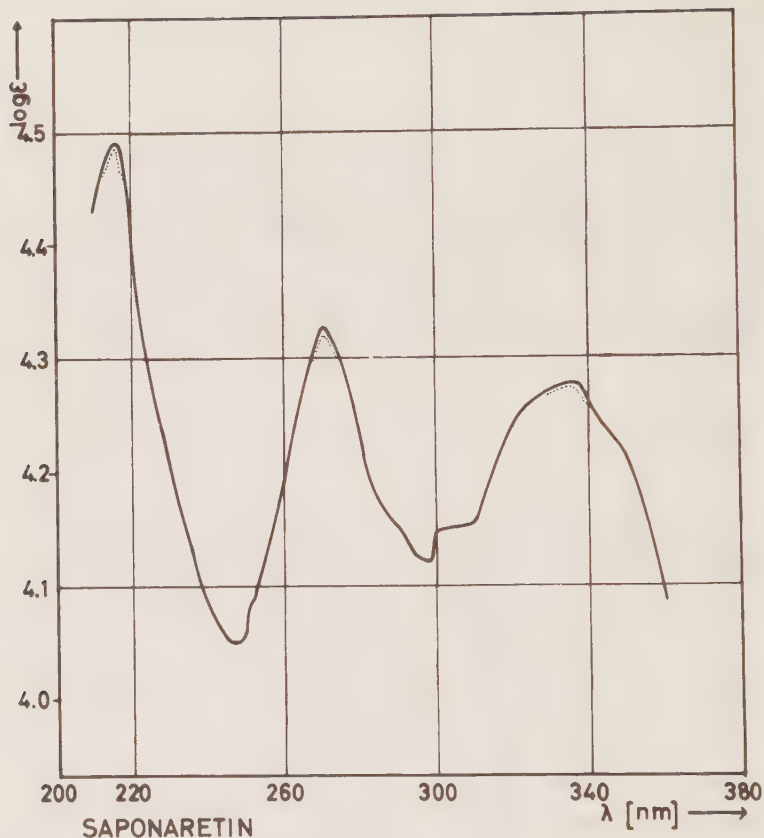
Angeregt durch die Arbeit von SINN (1967) wurde geprüft, ob sich auch das in den Passifloren vorhandene Saponarin durch die Jod-Reaktion nachweisen ließ.

Bei den verwendeten Blatt-Epidermen von *P. incarnata* und *P. quadrangularis* fiel die Jod-Reaktion negativ aus.

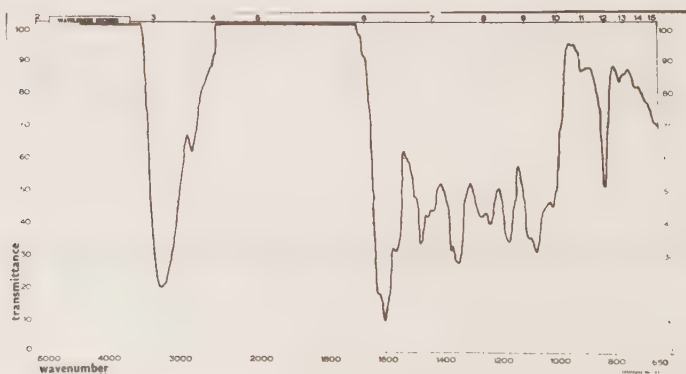
Warum war der Reaktionsausfall bei den Passifloren negativ? Die Erfassungsgrenze der Jod-Reaktion für Saponarin liegt nach SINN (1967) bei 0,25 %. Die Reaktion ist also nicht besonders empfindlich. Die Konzentration des in den beiden Drogen vorhandenen Saponarins mußte also jeweils unter 0,25 % liegen.



UV-Spektren des pc isolierten Saponarins und des authentischen Saponarins



UV-Spektren des isolierten Saponaretins (II Fr 5) und des authentischen Saponaretins



IR-Spektrum des isolierten Saponaretins (II Fr 5)

ß Die Alkaloide der drei Passiflora-Arten

1. Die vier Carbolin-Basen

Auf das Vorkommen von Basen in der Gattung Passiflora, insbesondere bei *P. incarnata*, sind wir in neuerer Zeit durch die wegbereitenden Arbeiten von NEU (1954, 1956) hingewiesen worden. Ergänzende Forschungen auf diesem Gebiet sind von LUTOMSKI (1959, 1960) sowie SCHINDLER (1960) und AMBÜHL (1966) unternommen worden.

Als Ergebnis ist das Vorkommen von vier Carbolin-Basen aufzuzeigen

- a) Harman
- b) Harmin
- c) Harmol
- d) Harmalin

Das Ziel dieses Teiles der vorliegenden Arbeit war es, zu klären, ob diese für *Passiflora incarnata* nachgewiesenen Alkaloide auch in den beiden weiteren zur Verfügung stehenden Arten aufgefunden werden könnten. Weiterhin sollte auf das Vorliegen von unbekannten Basen geachtet werden. Ein evtl. auftretender Unterschied in der Alkaloidführung wäre zu diskutieren.

2. Methode der Extraktion und Vorbereitung der Extrakte zur Chromatographie

Zunächst wurde die feingemahlene Droge in einen Perkolator eingebracht und mit 2 %iger Salzsäure ausgezogen, um die Alkaloidsalze möglichst ballastfrei zu erhalten. Die Fleckendurchmesser der Eluate ließen jedoch pc erkennen, daß auf diese Weise nur sehr geringe Alkaloid-Quantitäten gewonnen werden konnten.

Die Arbeiten von NEU (1954, 1956) und LUTOMSKI (1959, 1960) hatten ergeben, daß die Alkaloidfraktion von *P. incarnata* durch Methanol vollständig extrahiert werden kann. HULTIN (1965) hatte Äthanol als Extraktionsmittel verwendet.

Die Droge wurde deshalb zur Extraktion der Basen 72 Stunden im Soxhlet mit Methanol ausgezogen. Bei diesem Verfahren wurden aber neben den Basen, - wie schon im Teil A, Seite 34 beschrieben - die begleitenden Flavonoide, Kohlenhydrate und Chlorophyll extrahiert. Zur Abtrennung der gewünschten Basen wurde der im Vakuum eingeeengte Methanolextrakt mit 2n Phosphorsäure versetzt und erwärmt. Die phosphorsaure Lösung, die die Basen als Phosphate enthielt, wurde nach mehrfachem Filtrieren von Unlöslichem (Chlorophyll) mit Essigester und nachfolgend mit Chloroform ausgeschüttelt.

Diese Maßnahme diente der restlosen Entfernung noch vorhandenen Chlorophylls sowie eines Teils der Flavonoide. Die vereinigten Fraktionen A wurden nach der Prüfung verworfen, da sie keine Basen enthielten.

Zur weiteren Aufarbeitung ging ich folgendermaßen vor: Um eine Trennung in phenolische und nicht-phenolische Basen vorzunehmen, wurde die phosphorsaure Lösung mit 2n Natronlauge auf pH 8,5 eingestellt (Merck-Universalindikatorpapier) und wiederum mit den oben angegebenen Lösungsmitteln extrahiert, welche die Fraktion C ergaben. Die wässrige Phase wurde nach Ansäuern mit 2n Phosphorsäure durch Ammoniaklösung auf pH 7,5 - 8 eingestellt und gleichermaßen extrahiert. Diese Lösungsmittel lieferten die Fraktion D.

3. Chromatographische Methodik

3.1 Dünnschichtchromatographie

Da die DC gegenüber der PC die besten Trenneffekte zeigte, soll hier nur die DC angeführt werden.

Tabelle 11

		Rf - Werte im System IV		
Vergleichs- substanz		P. incarnata C u. D	P. quadrangularis C u. D	P. pulchella C u. D
Harman	0,43	0,43	0,43	0,43
Harmin	0,28	0,28	0,28	0,28
Harmol	0,20	0,20	0,20	0,20

Kieselgel HF₂₅₄; Chloroform - Aceton (2 : 8)

3.2 Ergebnisse der DC

Durch unsere Untersuchungen konnte das Vorkommen von drei Alkaloiden der Carbolin-Reihe in Passiflorazeen bestätigt werden: Harman, Harmin und Harmol sind in den drei geprüften Arten vorhanden.

Aus der Tabelle 11 ist zu entnehmen, daß sich die Alkaloidfraktionen C und D jeder Art in der Zusammensetzung ihrer Bestandteile nicht unterscheiden. Aus der Fleckengröße der Chromatogramme entnehmen wir, daß die Fraktion C allgemein gehaltvoller war.

Das von AMBÜHL (1966) in *P. incarnata* gefundene Harmalin konnte

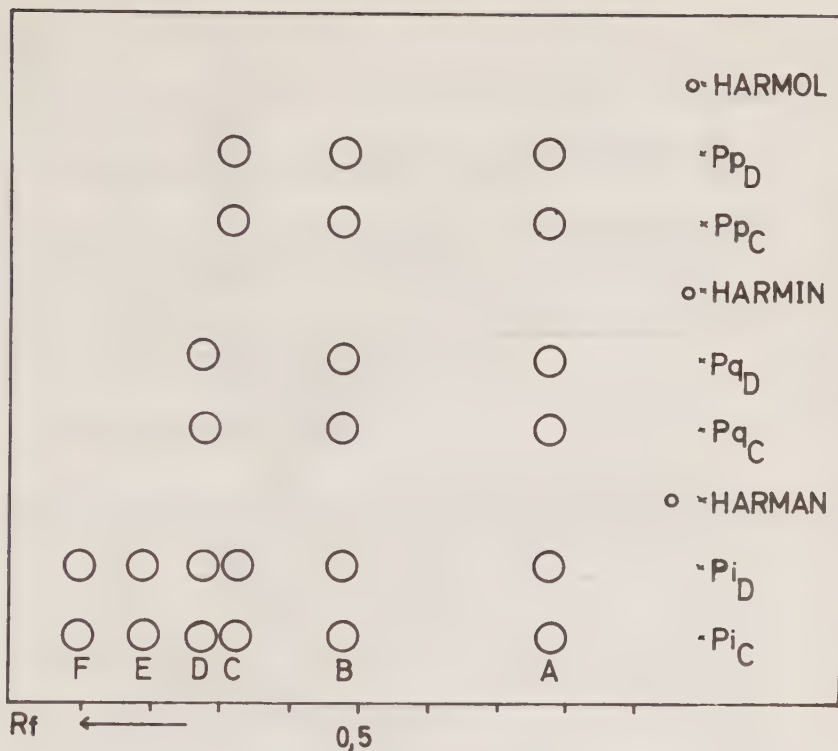
in der von uns untersuchten Droge nicht nachgewiesen werden. In den Arten *P. quadrangularis* und *P. pulchella* war es ebenfalls nicht aufzufinden. Auch LUTOMSKI (1959, 1960) hatte bei der Untersuchung von *P. incarnata* kein Harmalin feststellen können, jedoch wie wir die Föhrung von Harman, Harmin und Harmol nachgewiesen. Darüber hinaus konnte er noch zwei Basen unbekannter Konstitution isolieren.

3.3 Papierchromatographie

Die dc gewonnenen Ergebnisse konnten pc bestätigt werden. Systeme und Rf-Werte siehe Seite 89.

4. Vorkommen von nicht identifizierten Basen

Die in den Alkaloidfraktionen C und D enthaltenen unbekannten Basen wurden am übersichtlichsten aufgetrennt im System III. Hierin wiesen sie größere Rf-Werte als die Reinsubstanzen auf.



Dünnschichtchromatogramm der Alkaloidfraktionen C und D
System III: Chloroform - Aceton (8 : 2)

In der folgenden Tabelle ist das teilweise unterschiedliche Verhalten der Basenflecken A - F gegenüber den verwendeten Sprühreagenzien aufgeführt. Versuche zur näheren Charakterisierung dieser Inhaltsstoffe wurden nicht durchgeführt.

Tabelle 12

Fleck	Rf - Wert System III	Tages- licht	UV 254	UV 360	C A S			C A S 5' 80°			Dragendorff mod.	
					TL	UV 254	UV 360	TL	UV 254	UV 360	TL	UV 360
A	0, 22	-	Fluoreszenz- löschung blaugrün	Fluoreszenz blau	-	blau	Fluor. blau	ocker	braun	hell- braun	-	rotbraun
B	0, 52	-	"	"	-	-	"	"	-	"	-	blau
C	0, 69	-	"	"	-	-	"	"	-	rot- braun	-	"
D	0, 72	-	"	"	-	-	"	"	-	blau	-	"
E	0, 81	-	"	"	-	-	"	"	-	braun	-	"
F	0, 90	-	"	"	-	Fluoresz- löschung blau	"	-	Fluor- lösch. blau	blau	-	"

C A S = Cer-Ammoniumsulfat-Phosphorsäure (FARNSWORTH et al., 1964)

5. Versuche zur Anreicherung einzelner Alkaloide (*P. incarnata*)

Es sollte eine geeignete Methode gefunden werden, um die chromatographisch erkannten Alkaloide erschöpfend aus einem Methanol-Extrakt zu isolieren. Zur Klärung dieser Frage wurde die Extraktion bei verschiedenen pH-Werten vorgenommen.

5.1. Darstellung aus der Droge

Diese wurde, wie schon auf Seite 63 beschrieben, vorgenommen. Der erhaltene Methanol-Extrakt von 21 g wurde zur Alkaloidsalzbildung und zur Abtrennung von Chlorophyll sowie Flavonoiden mit 2n Phosphorsäure versetzt. Anschließend wurde filtriert. Das Filtrat wies den pH-Wert 2 auf. Zur weiteren Entfernung von Restchlorophyll und lipophilen Substanzen wurde die wäßrige Phase mit Essigester bzw. Methylenchlorid - Methanol (3 : 1) ausgezogen. In diesen Fraktionen waren keine Alkaloide nachzuweisen.

5.2 Extraktion der Alkaloide bei verschiedenen pH-Werten

Die pH-Werte 3 bis 11 wurden mit 20 %iger Natronlauge eingestellt. Es wurde mit den o. a. Lösungsmitteln extrahiert.

5.3 Dünnschichtchromatographie und Ergebnisse der Alkaloidanreicherung

Die DC wurde im System I durchgeführt. Indem wir die Fleckengröße und die Fluoreszenzintensitäten der einzelnen Alkaloide zugrunde legten, erhielten wir folgende Ergebnisse:

Die in den Fraktionen enthaltenen Harman-Alkaloide (Harman, Har-

min, Harmol) lassen sich optimal anreichern, und zwar

Harman bei pH 6 - 7

Harmin bei pH 6 - 7

Harmol bei pH 8, 5

Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch HULTIN (1965), der die Verteilungskoeffizienten der Alkaloide anhand ihrer im Spektrophotometer gemessenen Fluoreszenzwerte ermittelte.

Die hier gewonnenen Fakten sollten dazu dienen, eine Gehaltsbestimmung der Alkaloide in den drei *Passiflora*-Arten durchzuführen.

Bei der Aufarbeitung des methanolischen Extraktes konnte kein kristalliner Rückstand erhalten werden. Die in dieser Droge vorhandenen Alkaloidquantitäten waren zu gering.

Frühere Untersuchungen an *P. incarnata* haben ebenfalls geringe und stark wechselnde Ausbeuten ergeben. LUTOMSKI (1959) gab für eine in Polen angebaute und mit Methanol extrahierte Droge einen Alkaloidgehalt von 0,09 % an. Die Ausbeute verringerte sich auf 0,055 %, wenn die Droge mit 1 %iger Salzsäure extrahiert wurde. Bei einem Vergleich zwischen der in Polen angebauten und einer importierten *P. incarnata*-Ware wurde festgestellt, daß die einheimische nur 1/3 des Alkaloidbetrages der ausländischen aufwies. Auf dem Wege der säulenchromatographischen Trennung gelang es LUTOMSKI (1960), ausgehend von 3 kg getrockneter *P. incarnata*, mehrere Substanzen kristallin zu erhalten:

Harman	55,6 mg	entsprechend	1,85 mg%
Harmin	62,4 mg	"	2,08 mg%
Harmol	59,1 mg	"	1,97 mg%
Substanz A	6,2 mg	"	0,21 mg%
Substanz B	<u>10,1 mg</u>	"	0,34 mg%
	193,4 mg		

Einer weiteren Angabe zufolge (LUTOMSKI et WROCINSKI, 1960) wies *P. incarnata* einen Alkaloidgehalt von 0,07 %, als Harman berechnet, auf.

6. Spektrophotometrische Gehaltsbestimmung der Harman-Alkaloide in den drei Arten

Nach den bisher durchgeführten vergleichenden Untersuchungen stand mir besonders von *P. pulchella* nur noch eine für gravimetrische Gehaltsbestimmungen nicht mehr ausreichende Menge Droge zur Verfügung. Um aber dennoch einen Überblick über die Alkaloidquantitäten jeder Art zu bekommen und sie miteinander zu vergleichen, entschloß ich mich für die spektrophotometrische Bestimmung der Einzelalkaloide.

6.1 Extraktion der Alkaloide

Die hier angewendete Methode entsprach zunächst der bei der Flavonoidgewinnung beschriebenen, um einen möglichst fettfreien Methanolauszug zu erhalten. Das wiederholte Alkalisieren, Ansäuern und Aufnehmen in Äther hatte den Zweck, weitere nicht erwünschte Be-

gleitstoffe zu entfernen.

6.2 Vergleichssubstanzen

Es standen Harman, Harmin und Harmol als Reinstoffe zur Verfügung. Mit definierten Lösungen wurden zunächst deren UV-Absorptionen gemessen. Anhand der erhaltenen Daten wurden die Eichwerte aufgestellt. Die Messungen erfolgten bei den nachstehenden Wellenlängen:

Harman : $\lambda_{\max}$ 235 nm

Harmin : $\lambda_{\max}$ 240 nm

Harmol : $\lambda_{\max}$ 240 nm

6.2.1 Berechnung des Korrekturwertes anhand der Vergleichssubstanzen

Bei der dickschichtchromatographischen Aufarbeitung der Passifloraextrakte zur Isolierung der einzelnen Alkaloide geht erfahrungsgemäß ein Teil der Substanzen verloren. Dies ist hauptsächlich erklärbar durch die z. T. irreversible Adsorption der Substanzen an Kieselgel, die auch durch sehr ausgedehntes Eluieren mit Methanol nicht rückgängig gemacht werden kann. Um wenigstens einen Anhaltswert zu erhalten, in welcher Menge die Substanzen vor der präparativen Schichtchromatographie vorhanden gewesen waren, sollte der nicht-eluierte Substanzanteil bestimmt werden. Dieser ergab den Fehlbetrag. Dazu wurden genau gewogene Mengen der 3 Reinsubstanzen in je 3 Ansätzen chromatographiert, eluiert und deren Lösungen spektrophotometrisch gemessen. Der Quotient aus gefundener Konzentration und eingesetzter Konzentration $\frac{C_2}{C_1}$ wurde bestimmt.

Aus den auf Seite 100 dargestellten Werten ergibt sich, daß der relative Fehler bei der präparativen Schichtchromatographie annähernd 14 % erreicht.

Harman	:	Mittelwert	14,3 %
Harmin	:	"	15,23 %
Harmol	:	"	12,2 %

Diese Korrekturwerte waren nun den aus Passiflora-Extrakten chromatographisch isolierten Alkaloidmengen hinzuzurechnen. Es wurden die korrigierten Werte erhalten.

6.3 Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen

Ausgehend von 100 g Droge wurden die folgenden Ergebnisse erhalten.

Tabelle 13

		P. incarnata	P. quadrangularis	P. pulchella
Harman	gefunden	0,89 mg	0,64 mg	0,94 mg
	+ 14,3 %	0,12 mg	0,09 mg	0,13 mg
	korrig. Wert	1,01 mg	0,73 mg	1,07 mg
Harmin	gefunden	0,42 mg	0,44 mg	0,78 mg
	+ 15,23 %	0,06 mg	0,06 mg	0,11 mg
	korrig. Wert	0,48 mg	0,50 mg	0,89 mg
Harmol	gefunden	0,64 mg	0,28 mg	0,95 mg
	+ 12,2 %	0,07 mg	0,03 mg	0,11 mg
	korrig. Wert	0,71 mg	0,31 mg	1,06 mg
gesamt		2,20 mg	1,54 mg	3,02 mg

7. Aufstellung eines Inhaltsstoff-Musters

Nach der Untersuchung der Alkaloid- und Flavonoidfraktionen werden die Inhaltsbestandteile in Form eines für jede Art "typischen Musters" zusammengefaßt.

Tabelle 14

	<i>P. incarnata</i>	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. pulchella</i>
identifizierte Alkaloide	Harman Harmin Harmol	Harman Harmin Harmol	Harman Harmin Harmol
nicht identifizier- te Basen	A, B, C, D, E, F,	A, B, C,	A, B, C
identifizierte Flavonoide	Saponarin (A) Saponaretin (B) Vitexin (C) Homo-Orientin (D)	Saponarin (A) Saponaretin (B) Vitexin (C)	Saponarin (A) Saponaretin (B) Vitexin (C) Homo-Orientin (D)
nicht identifizier- te Flavonoide	E, F, G	X, Y	Z

VII Eigene Untersuchungen:

B Experimenteller Teil

ALLGEMEINES

Zur Untersuchung gelangten die getrockneten Triebe von *Passiflora incarnata* L. und *Passiflora quadrangularis* L.. Beide Drogen sowie ein Methanol-Extrakt von *P. incarnata* wurden uns von der Firma Dr. Willmar Schwabe, Karlsruhe, zur Verfügung gestellt, der wir zu großem Dank verpflichtet sind.

Die Triebe und Wurzeln von *Passiflora pulchella* H. B. K. wurden auf Hawaii gesammelt und anschließend getrocknet. Herrn Prof. P. Scheuer, University of Honolulu, danken wir auch an dieser Stelle herzlich für das Drogenmaterial.

Zur Papierchromatographie fand das Papier Schleicher & Schüll Nr. 2043 bM Verwendung (Bogen 19 x 19 cm). Die Chromatogramme wurden aufsteigend entwickelt.

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20 x 20 cm benutzt. Die Platten wurden mit dem Streichgerät nach Stahl (Fa. Desaga) beschichtet. Die Schichtdicke der Sorptionsmittel Kieselgel G und Kieselgel HF₂₅₄ (beide "Merck") betrug etwa 0,3 mm. Die zur dünn-schichtchromatographischen Prüfung verwendeten Polyamid-Zellulose-Platten wurden wie folgt beschichtet: 8,3 g Polyamid zur DC "Merck" und 1,7 g Zellulosepulver zur DC "Merck" wurden in einer Mischung von 24 ml Chloroform und 36 ml Methanol suspendiert. Mit dieser Suspension wurden 5 Platten 20 x 20 cm beschichtet.

Konzentrations- und Verhältnisangaben bei Laufmitteln zur Chromatographie beziehen sich auf Volumina (v/v).

Sämtliche Rf-Werte stellen Mittelwerte aus vier Chromatogrammen dar.

Für die präparative Schichtchromatographie verwendete ich Kieselgel PF₂₅₄ "Merck"; die Schichtdicke betrug 1,5 mm. Zur Säulenchromatographie wurde Polyamidpulver (Ultramid) der Firma BASF gebraucht, für dessen Bereitstellung wir zu Dank verpflichtet sind.

Die UV-Absorptionswerte (Spektren und quantitative Bestimmungen) wurden mit einem Zeiss-Spektralphotometer PMQ II⁺) gemessen. Die Lösungen befanden sich in Quarzküvetten von 1,000 cm Schichtdicke. Zur Messung gelangten Lösungen in Methanol (Uvasol). Die IR-Spektren wurden mit dem Leitz-Unicam-Spektralphotometer SP. 200 aufgenommen. Zur Messung kamen KBr-Preßlinge.

∞ Die Flavonoide der drei Passiflora-Arten

1. Methode der Extraktion und Vorbereitung der Extrakte zur Chromatographie

150 g grob gepulverte Droge von *Passiflora quadrangularis* und *Passiflora pulchella* wurden 72 Stunden lang mit etwa 6 l Petroläther im Soxhlet vorextrahiert. Anschließend wurde während 72 Stunden mit etwa 6 l Methanol extrahiert. Von einer mit Methylenchlorid vorextrahierten Droge von *Passiflora incarnata* stand ein Methanol-Extrakt zur Verfügung. Der Methanol-Extrakt wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft. Den Rückstand schüttelten wir jeweils fünfmal mit je 100 ml kochendem Wasser durch und filtrierten die heiße Lösung. Danach wurde das Filtrat auf etwa 300 ml eingengt und für 24 Stunden in den Kühlschrank gestellt. Nach Dekantieren vom unlöslichen schmutzigen Rückstand wurde die wäßrige Lösung mit je 300 ml

+) Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Überlassung dieses Gerätes.

Chloroform und Essigester ausgeschüttelt. Die Auszüge und die wäßrige Phase (= Extrakt I) wurden getrennt im Vakuum eingeeengt und mit Methanol auf eine Konzentration von 2, 5 % Trockenextrakt eingestellt.

Tabelle 15

Ausbeuten	P. incarnata	P. quadrangularis	P. pulchella
Petroläther-Extrakt	-	9, 0 g	3, 5 g
Methanol-Extrakt	30, 9 g	34, 0 g	24, 5 g
Extrakt I	16, 3 g	16, 0 g	13, 0 g

2. Tüpfel-Reaktionen

Mit den Extrakten I wurden die folgenden Tüpfelreaktionen ausgeführt:

a) Reduktionsprobe nach SHINODA (1928)

Zu 0, 5 ml einer 2, 5 %igen methanolischen Lösung des Extraktes I wurde eine Messerspitze Mg-Pulver gegeben; anschließend wurde mit 0, 5 ml 25 %iger Salzsäure versetzt.

b) Reaktion mit Eisen-III-chlorid

0, 5 ml einer 2, 5 %igen methanolischen Lösung des Extraktes I wurden mit 2 Tropfen einer 1 %igen methanolischen FeCl_3 -Lösung versetzt.

c) Reaktion mit Kalilauge

0, 5 ml einer 2, 5 %igen methanolischen Lösung des Extraktes I wurden mit 2 Tropfen einer 1 %igen Kalilauge versetzt.

Die Ergebnisse dieser Reaktion werden auf Seite 36 beschrieben.

3. Chromatographische Methodik

3.1 Vergleichssubstanzen

Folgende Flavonglykoside bzw. -aglyka standen als Vergleichssubstanzen zur Verfügung:

Apigenin-7-glucosid Kämpferol-3-glucosid Rutin Quercetin	Handelsprodukte der Fa. Carl Roth, Karlsruhe
Homo-Orientin Luteolin-7-glucosid	aus <i>Vitex agnus castus</i> isoliert von HÄNSEL et RIMPLER (1963) ⁺
Orientin	durch Isomerisierung von Homo-Orientin
Saponaretin	durch Isomerisierung von Vitexin
Saponarin	nach der Vorschrift von BARGER (1906) aus <i>Saponaria officinalis</i> isoliert
Vitexin	aus <i>Vitex lucens</i> isoliert ⁺⁺

3.2 Papierchromatographie

Von 2,5 %igen Lösungen der Passiflora-Extrakte I und der Vergleichssubstanzen wurden je 0,1 ml und 0,05 ml auf das Papier aufgetragen. Die Chloroform- und Essigesterextrakte wurden ebenfalls chromatographiert. Nach dem Entwickeln in der ersten Dimension wurde das Papier bei Zimmertemperatur getrocknet. Dann wurde in der zweiten

+ Wir danken Herrn Dr. H. Rimpler für die Überlassung je einer Substanzprobe.

++ Herrn Dr. K.D. Schaaf sind wir für die Überlassung dieser Substanz dankbar.

Dimension entwickelt. Die Laufstrecke in beiden Dimensionen betrug je 12,5 cm. Die aufgetretenen Flecken wurden vor und nach dem Besprühen in Tages- und UV-Licht bestimmt. Als Reagenz diente 1%ige äthanolische Diphenylborsäure- β -aminoäthylester-Komplexlösung (STAHL, 1967). Nach dem Schnittpunktverfahren wurden die Flecken jeweils identifiziert.

Es folgen die Rf-Werte der als Vergleichssubstanzen verwendeten Flavon-C-Glykoside.

Tabelle 16

Substanz	Rf-Werte im System				Farbe nach dem Besprühen
	I	II	III	IV	TL und UV
Homo-Orientin	0,41	0,13	0,07	0,35	gelb
Orientin	0,36	0,08	0,04	0,30	gelb
Saponaretin	0,60	0,22	0,13	0,62	gelbgrün
Saponarin	0,33	0,39	0,26	0,29	gelbgrün
Vitexin	0,42	0,10	0,04	0,45	gelbgrün

Papierchromatographie I Butanol - Eisessig - Wasser (4 : 1 : 5)

II Eisessig - Wasser (3 : 97)

III 3 %ige wäßrige NaCl-Lösung

IV Essigester - Ameisensäure - Wasser (10:2:3)

Die Systeme I bis IV wurden in der Kombination I + II bzw. IV + II für die zweidimensionale Papierchromatographie benutzt.

3.3 Dünnschichtchromatographie

Von 2,5 %igen Lösungen der Passiflora-Extrakte I und der Vergleichssubstanzen wurden je 0,1 ml und 0,05 ml auf die Platten aufgetragen.

Kieselgel G-Platten wurden nach der aufsteigenden Methode eindimensional, die Polyamid-Zellulose-Platten zweidimensional entwickelt. Die Vergleichssubstanzen liefen auf derselben Platte mit.

Die Steighöhe betrug jeweils 12,5 cm. Nach dem Besprühen mit 1%iger äthanolischer Diphenylborsäure- β -aminoäthylester-Komplexlösung färbten sich die Flavonoide gelb bis gelbgrün (Tages- und UV-Licht).

In der Tabelle 17 sind die chromatographisch identifizierten Flavonoide der Passifloren zusammengestellt.

Tabelle 17

Rf - Werte					
	System	Homo-Orientin	Saponaretin	Saponarin	Vitexin
Reinsubstanz	I	0,59	0,61	0,34	0,79
	II	0,56	0,57	0,16	0,77
Passiflora incarnata	I	0,59	0,61	0,34	0,79
	II	0,56	0,57	0,16	0,77
Passiflora quadrangularis	I	-	0,61	0,34	0,79
	II	-	0,57	0,16	0,77
Passiflora pulchella	I	0,59	0,61	0,34	0,79
	II	0,56	0,57	0,16	0,77

Kieselgel G; I Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3)

II Essigester - Methyläthylketon - Ameisensäure - Wasser
(25 : 15 : 5 : 5)

Für Polyamid-Zellulose-Schichten wurden die folgenden Systeme verwendet:

- a) 1. Dimension Benzol - Methanol - Wasser (15 : 37 : 1, 5)
2. Dimension Essigester - Äthanol (20 : 30)
- b) 1. Dimension Chloroform - Äthanol - Wasser (15 : 20 : 1)
2. Dimension Essigester - Methyläthylketon - Äthanol (7 : 5:10)

Sprühreagenz: 1 %ige äthanolische Diphenylborsäure- β -aminoäthylester-Komplexlösung.

Die Flavonoide färbten sich gelb bis gelbgrün (Tages- und UV-Licht).

Die Ergebnisse der DC an Polyamid-Zellulose siehe Seite 56 .

4. Versuche zur Anreicherung einzelner Flavonoide (*Passiflora incarnata*)

1300 g grob gepulverte Triebe und Blätter wurden 72 Stunden lang mit Petroläther vorextrahiert. Der Extrakt wurde verworfen. Anschließend wurde die Droge während 72 Stunden mit Methanol erschöpfend ausgezogen, wobei alle 3 Stunden der Extrakt entnommen und durch frisches Lösungsmittel ersetzt wurde. Die vereinigten Auszüge wurden im Vakuum eingeeengt; sie lieferten insgesamt 223,5 g Trockenrückstand. Dieser wurde mit 1 l kochendem Wasser im Rundkolben geschwenkt und sofort filtriert. Nach dem Erkalten des Filtrats wurde erneut vom unlöslichen Rückstand abfiltriert. Das Filtrat wurde auf etwa 400 ml eingeeengt und nach dem Erkalten abermals filtriert. Darauf wurde mit Chloroform und Essigester extrahiert. Die wäßrige Phase erbrachte nach dem Einengen im Vakuum 145 g Extrakt I.

14 g des Extraktes I wurden an einer Polyamid-Säule chromatographiert. Ich bereitete die Säule wie folgt:

330 g Polyamidpulver (Versuchsprodukt KR 1159 der BASF) wurden in einer langen und weiten Chromatographiesäule so lange mit Methanol zur Entfernung methanollöslicher Verunreinigungen gewaschen, bis beim Eindampfen des Eluates kein Rückstand von Polyamid mehr erhalten wurde (NÜRNBERGER, 1964). Darauf wurde das Polyamidpulver bei Zimmertemperatur getrocknet. 300 g des in dieser Weise behandelten Polyamids wurden in 500 ml Wasser suspendiert und in eine Chromatographiesäule von 6 cm Ø eingebracht. Der Hahn wurde so weit geöffnet, daß sich das Polyamid bei mittlerer Tropfgeschwindigkeit gut absetzen konnte. Nach dem Einsickern der überstehenden Flüssigkeit wurde die Säule gleichmäßig mit 14 g Extrakt I beschickt, der in einer gerade zur Lösung ausreichenden Menge Wasser aufgenommen war. Als diese Lösung eingesickert war, wurde die Säule zunächst mit Wasser, darauf mit steigenden Konzentrationen an Methanol eluiert.

Wir erhielten folgende Fraktionen:

Fraktion	Elutionsmittel	Farbe des Eluates	Trockenrückstand
I a	40 ml H ₂ O	grün	780 mg
I b	300 ml H ₂ O	braun	10.150 mg
I z	900 ml MeOH 25 %ig	gelb	493 mg
II a	800 ml MeOH 50 %ig	gelb	400 mg
II b	800 ml MeOH 50-80 %ig	gelb	590 mg
III	1500 ml MeOH 80-100 %ig	gelb	738 mg

Die ersten 3 Fraktionen, die die Hauptmenge des Extraktes ausmachen, wurden papierchromatographisch geprüft. Sie enthielten keine flavonoiden Substanzen. Die am reinsten erhaltene Fraktion II b wurde noch aus weiteren 8 Ansätzen zu je 14 g Extrakt I gewonnen. Diese Fraktionen wurden vereinigt (3,4 g Trockenextrakt) und erneut über eine Säule mit 100 g Polyamid gegeben. Mit steigenden Methanolkonzentrationen erhielten wir folgende Eluate:

II b/1	180 mg
/2	1.980 mg
/3	250 mg
/4	125 mg
/5	650 mg

Zur Analyse wurden die Fraktionen und Reinsubstanzen auf Papier chromatographiert.

System I Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3)

II Butanol - Eisessig - Wasser (4 : 1 : 5)

Außerdem wurden Polyamid-Zellulose-Platten verwendet, deren Trenneigenschaften dem Papier überlegen waren.

In der folgenden Tabelle werden die Rf-Werte von Hauptbestandteilen der Fraktionen II b/4 und II b/5 aufgeführt.

Tabelle 18

Rf - Werte					
System	Fraktion II b/4	Fraktion II b/5	Saponarin	Saponaretin	Vitexin
I	0,79 u. 0,76	0,67, 0,76	0,79	0,67	0,76
II	0,84 u. 0,72	0,53, 0,72	0,84	0,53	0,72

Polyamid-Zellulose; I Benzol - Methanol - Wasser (15 : 37 : 1,5)

II Methanol - Formamid - Wasser (60 : 30 : 15)

4.1 Hydrolysen

Je 5 mg der Reinsubstanzen (Apigenin-7-glucosid, Homo-Orientin, Rutin, Saponarin, Vitexin) sowie je 20 mg der Fraktionen II b/4 und II b/5 und des Extraktes I wurden der sauren Hydrolyse unterworfen.

Die angegebenen Mengen wurden in 7,5 ml Methanol gelöst und mit 7,5 ml 2n Salzsäure versetzt. Nach 6stündigem Kochen am Rückfluß wurde die Lösung auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingengt und mit Wasser wieder auf 15 ml aufgefüllt. Anschließend wurde 5mal mit je 5 ml Butanol ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen wurden 10mal mit je 3 ml Wasser säurefrei gewaschen und auf ein Volumen von 5 ml eingengt. Diese Lösung wurde zur Chromatographie verwendet.

4.2 Identifizierung von Saponarin

4.2.1 UV-Spektrum

Saponarin wurde aus 6 Papierchromatogrammen des Extraktes I von *P. incarnata*, die in der

1. Dimension mit Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3)
- und 2. Dimension mit Eisessig - Wasser (3 : 97)

entwickelt worden waren, mit 50 %igem Methanol eluiert. Das Eluat wurde völlig eingedampft und in Methanol (Uvasol) aufgenommen.

$\lambda_{\max}$	248	272	300	336
$\epsilon'_{\max}$	18,76	28,55	17,67	25,83
lg $\epsilon'_{\max}$	1,27	1,46	1,25	1,41
$\epsilon_{\max}$	12535	19075	11810	17258
lg $\epsilon_{\max}$	4,10	4,28	4,07	4,24

$$c = 0,735 \cdot 10^{-2} \text{ gl}^{-1} = 1,10 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$$

4.2.2 Säurehydrolyse und Prüfung auf Zucker

Das zur UV-Messung verwendete Saponarin-Eluat von 6 Papierchromatogrammen wurde auf 7,5 ml eingengt und mit 7,5 ml 2n Salzsäure versetzt. Die Mischung wurde 3 Stunden im siedenden Wasserbad erhitzt, zur Hälfte eingengt und mit Wasser auf 15 ml aufgefüllt. Nach dem Extrahieren mit Butanol wurde die wäßrige Phase zur Bestimmung des Zuckeranteils mittels DC verwendet. Rhamnose, Glucose und Xylose wurden ebenfalls chromatographiert.

Tabelle 19

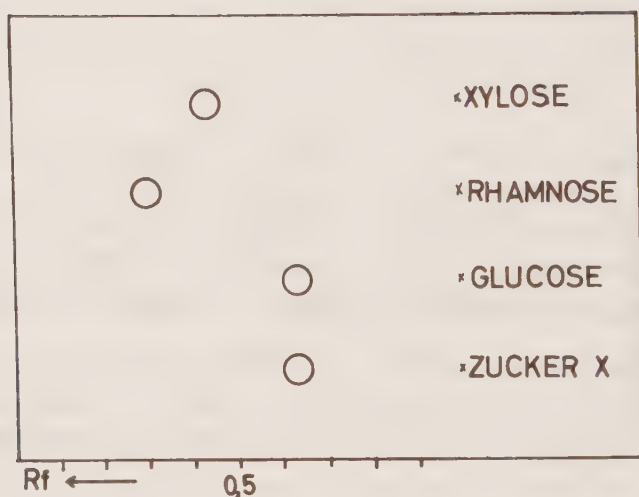
	Rf-Werte
Zucker X	0,36
Glucose	0,36
Rhamnose	0,70
Xylose	0,56

Kieselgel - Kieselgur (1 : 2) mit Natriumacetat gepuffert.

Essigester - Isopropanol - Wasser (65 : 27 : 8)

Sprühreagenz: Anisaldehyd - Schwefelsäure

Als Zuckeranteil des Saponarins konnte Glucose eindeutig identifiziert werden.



Hydrolyseergebnis des pc isolierten Saponarins

4.2.3 Jod-Reaktion nach DUFOUR

Die histochemische Prüfung auf Saponarin wurde nach der Vorschrift von Dufour (ref.: MOLISCH, 1923; SINN 1967) ausgeführt.

4.3 Isolierung von Saponaretin

Die äthanolische Fraktion II b/5 wurde bei 50°C bis zur Trübung mit Wasser versetzt; aus dieser fiel nach dem Abkühlen ein gelber gut filtrierbarer polarisierender Niederschlag. Das Umkristallisieren aus Äthanol mißlang, da die Lösung sofort zu einem Gel erstarrte. Nach dem Abdestillieren des Äthanol ging beim Aufnehmen in siedendem Aceton jedoch ein Teil des Niederschlags in Lösung, aus der beim Abkühlen ein gelbgrüner Niederschlag erhalten wurde. Nach dem Absaugen wurde dieser im Exsikkator getrocknet. Die Auswaage der erhaltenen Substanz Y betrug 33,8 mg, ihr Schmelzbereich 213 bis 215°C.

Die DC an Polyamid - Zellulose im Laufmittel Essigester - Äthanol (20 : 30) zeigte, daß neben dem vermuteten Saponaretin noch Vitexin enthalten war (s. Tab. 15). Zur Abtrennung des Saponaretins wurden 15 mg der Substanz Y in wenig Äthanol - Aceton gelöst und damit drei Dickschichtplatten von Polyamid - Zellulose beschickt. Nach der Chromatographie wurden jeweils die unteren Zonen (Rf 0,67) ausgekratzt und mit Äthanol eluiert. Durch wiederholtes Filtrieren und Einengen wurde vom begleitenden Polyamid abgetrennt. Die nun erhaltene Substanz X wurde mehrmals aus Äthanol - Wasser - Gemischen umkristallisiert. Die Auswaage betrug 1,8 mg, ihr Schmelzbereich 238 bis 240°C. (246-47°, ref.: HAYNES, 1963)

4.3.1 Identifizierung von Saponaretin

Die Chromatographie ergab, daß die Substanz X in den angegebenen Laufmitteln die gleichen Rf-Werte wie Saponaretin aufwies.

Tabelle 20

Rf - Werte im System			
	I	II	III
Substanz X	0,67	0,53	0,62
Saponaretin	0,67	0,53	0,62

Polyamid-Zellulose; I Benzol - Methanol - Wasser (15 : 37 : 1,5)

II Methanol - Formamid - Wasser (60 : 30 : 15)

Papier-

chromatographie; III Essigester - Ameisensäure - Wasser (10 : 2 : 3)

4.3.2 UV-Spektrum

$\lambda_{\max}$	248	270	295	335 nm
$\epsilon'_{\max}$	21,93	41,86	26,32	37,48 g ⁻¹ cm ⁻¹
lg $\epsilon'_{\max}$	1,34	1,62	1,42	1,57
$\epsilon_{\max}$	11093	21178	13311	18960 Mol ⁻¹ cm ⁻¹
lg $\epsilon_{\max}$	4,05	4,33	4,12	4,28

$$c = 25,08 \cdot 10^{-2} \text{ g l}^{-1} = 4,96 \cdot 10^{-5} \text{ Mol l}^{-1} \text{ in Methanol}$$

4.3.3 Säurehydrolyse

0,3 mg der Substanz X wurden, wie auf Seite 84 beschrieben, hydrolysiert. Die Butanolphase des Hydrolysegemisches wurde pc und dc in den Systemen der Tabelle 15 geprüft. Neben dem Saponaretfleck war nun derjenige des isomeren Vitexins festzustellen. Also entsprach Substanz X dem Saponaretin.

B) Die Alkaloide der drei Passiflora-Arten

1. Methode der Extraktion und Vorbereitung der Extrakte zur Chromatographie

100 g grob gepulverte Droge wurden 72 Stunden lang mit etwa 4 l Methanol im Soxhlet erschöpfend extrahiert. Der Methanol-Extrakt wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft. Darauf wurden 300 ml 2n Phosphorsäure zugesetzt und die Suspension 45 Minuten bei einer Wasserbadtemperatur von 80°C erwärmt. Die phosphorsaure Lösung wurde sofort zweimal filtriert und abgekühlt. Nach 24 Stunden wurde nochmals filtriert. Das erhaltene Filtrat wurde wiederholt mit Essigester und Chloroform extrahiert. Die beiden Auszüge wurden

vereinigt und auf 20 ml eingeeengt (A). Darauf wurde mit 2n Natronlauge auf pH 8,5 eingestellt und mit 200 ml Essigester (enthaltend 10 % Methanol) und anschließend mit 200 ml Chloroform (enthaltend 10 % Methanol) ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge wurden auf 10 ml eingeeengt (C). Die wäßrige Phase wurde mit 2n Phosphorsäure versetzt, mit konz. Ammoniaklösung anteilweise alkalisiert (pH 7,5 - 8) und mit den obigen Lösungsmitteln extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden auf 10 ml eingeeengt (D) und zur Chromatographie verwendet.

2. Chromatographische Methodik

2.1 Vergleichssubstanzen

Als Vergleichssubstanzen standen Harman, Harmol und Harmalin der Firma Carl Roth, Karlsruhe, zur Verfügung. Harmin stammte von der Chemischen Fabrik Fluka, Buchs SG (Schweiz).

2.2 Papierchromatographie

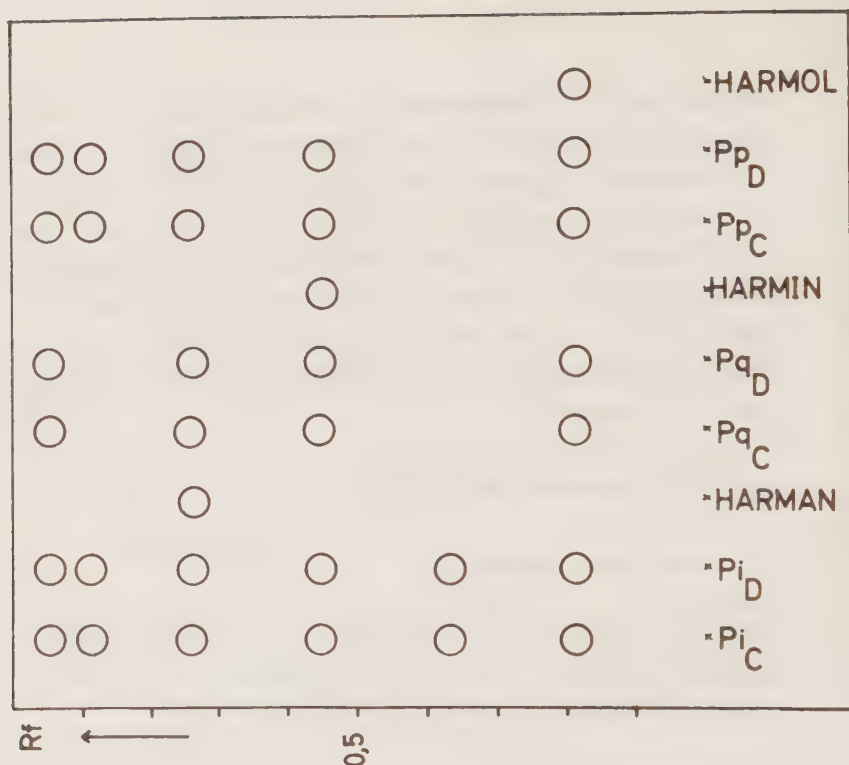
Von den Alkaloidfraktionen der drei *Passiflora*-Arten

P. incarnata : Pi_C Pi_D

P. quadrangularis : Pq_C Pq_D

P. pulchella : Pp_C Pp_D

sowie von 0,5 %igen methanolischen Lösungen der Vergleichssubstanzen wurden jeweils 0,1 ml und 0,05 ml auf das Papier aufgetragen und aufsteigend chromatographiert. Nach Verdunsten des Laufmittels wurden die Flecken im UV-Licht bestimmt und anschließend mit dem Reagenz nach Dragendorff-modifiz. nach Munier und Macheboeuf-besprüht (STAHL, 1967). Nach dem Trocknen wurde das Papier erneut unter UV-Licht betrachtet.



Papierchromatogramm der Alkaloidfraktionen der drei Passiflora-Arten.

System: Tetrachlorkohlenstoff - Benzol - Methanol (2 : 1 : 1)

2.3 Dünnschichtchromatographie

Die Alkaloidfraktionen der drei Passiflora-Arten sowie 0,5 %ige methanolische Lösungen der Vergleichssubstanzen wurden zu je 0,1 ml und 0,05 ml auf die Platte aufgetragen. Unter den von Stahl angegebenen Standardbedingungen wurde in den 4 angegebenen Laufmittel-Systemen chromatographiert. Nach Verdunsten des Laufmittels wurden die unter UV-Licht fluoreszierenden Flecken der Extrakte

markiert und mit den Reinsubstanzen verglichen.

Tabelle 21

	RF-Werte im System			
	I	II	III	IV
Harman	0, 53	0, 25	0, 047	0, 43
Harmin	0, 41	0, 18	0, 030	0, 28
Harmol	0, 06	0, 048	0, 026	0, 20
Harmalin	0, 37	-	-	-

I Cyclohexan - Chloroform - Methanol - Diäthylamin
(20 : 20 : 2 : 5)

II Chloroform - Aceton (5 : 4)

III Chloroform - Aceton (8 : 2)

IV Chloroform - Aceton (2 : 8)

Die vier angeführten Alkaloide sind im Tageslicht auf dem Chromatogramm nicht sichtbar. Harman, Harmin und Harmol zeigen bei UV₃₆₀ - Bestrahlung eine tiefblaue Fluoreszenz, Harmalin dagegen eine grünweiße. Im UV₂₅₄ -Licht fluoreszieren Harman, Harmin und Harmol leuchtend hellblau, Harmalin hellgelb. Durch die Sprühreagenzien nach Dragendorff - modifiz. nach Munier und Macheboeuf - (STAHL, 1967) sowie Cer - Ammoniumsulfat - Phosphorsäure (FARNSWORTH et al., 1964) erfahren die Reinsubstanzen eine Fluoreszenzvertiefung.

Für die Detektion der Reinsubstanzen im Vergleich mit den Alkaloidfraktionen waren die Laufmittelsysteme I und IV am besten zu gebrauchen.

Tabelle 22

		Rf - Werte im System I		
Vergleichs- substanz		P. incarnata C u. D	P. quadrangularis C u. D	P. pulchella C u. D
Harman	0,06	0,06	0,06	0,06
Harmin	0,41	0,41	0,41	0,41
Harmol	0,53	0,53	0,53	0,53

Kieselgel HF²⁵⁴ Cyclohexan - Chloroform - Methanol - Diäthylamin
(20 : 20 : 2 : 5)

Die Rf-Werte im System IV sind auf Seite 64 aufgeführt.

Die ihrer Konstitution nach unbekannten Basen wurden dc mit dem System III chromatographiert (siehe Seite 65)

3. Versuche zur Anreicherung einzelner Alkaloide (P. incarnata)

150 g Droge lieferten nach 72 stündiger Extraktion mit Methanol im Soxhlet 21 g Trockenrückstand, der mit 100 ml 2n Phosphorsäure versetzt und 45 Minuten lang bei 80°C auf dem Wasserbad unter Umschütteln erwärmt wurde. Danach wurde zweimal filtriert. Nach 2 Tagen wurde nochmals vom ausgeschiedenen Chlorophyll abfiltriert. Das Filtrat wies den pH-Wert 2 auf (Universalindikatorpapier "Merck").

Es wurde mit a) Essigester (6 x 30 ml)

b) Methylenchlorid + Methanol (3 : 1, 5 x 30 ml)

extrahiert.

Dann wurden mit 20 %iger Natronlauge die pH-Werte 3 bis 11 und deren 0,5-Zwischenwerte eingestellt. Mit den o. a. Lösungsmitteln wurde extrahiert. Die einzelnen organischen Phasen wurden nach Lösungsmittel und pH-Wert getrennt auf 10 ml eingengt und zur Chromatographie verwendet. Es wurden jeweils 0,1 und 0,05 ml der Fraktionen und der Vergleichslösungen aufgetragen. Es wurde an Kieselgel HF₂₅₄ im System I chromatographiert, die Laufstrecke betrug 15 cm.

Ergebnisse siehe Seite 68 .

4. Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen der Harman-Alkaloide in den drei Passiflora-Arten

4.1 Methode der Extraktion

100 g gepulverte Droge jeder Art wurden 6 Stunden lang mit 1,5 l Petroläther im Soxhlet vorextrahiert. Anschließend wurde während 72 Stunden mit etwa 5 l Methanol extrahiert. Der Methanol-Extrakt wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und mit 70 ml Wasser aufgenommen. Diese Suspension wies den pH-Wert 5,5 auf. Mit 2n Natriumkarbonat-Lösung wurde annähernd neutralisiert (pH 6,5 - 7). Darauf wurde auf 80°C erwärmt und 15 Minuten lang geschüttelt. Nach dem Abkühlen wurde in Anteilen mit den folgenden Lösungsmitteln ausgeschüttelt:

- a) Äther (150 ml)
- b) Äther + Essigester (1 : 2, 150 ml)
- c) Chloroform (150 ml)

Die Auszüge wurden vereinigt und zur Trockne eingengt.

Die wäßrige Phase wurde nach weiterem Alkalisieren auf pH 8, 5 ebenfalls, wie vorstehend beschrieben, behandelt. Es wurden die gleichen Mengen Lösungsmittel zur Extraktion der Basen eingesetzt. Sämtliche organischen Phasen jeder Passiflora-Art wurden vereinigt, unter vermindertem Druck zur Trockne gebracht und anschließend in 50 ml Äther aufgenommen. Dem Äther wurden die Basen durch wiederholtes Ausschütteln mit 1n Salzsäure restlos entzogen. Eine Probe des Äthers gab nach dem Verdampfen des Äthers, in angesäuertem Wasser aufgenommen, mit 1 Tr. Mayers Reagenz keine Fällung mehr. Nach dem Alkalisieren mit 2n Natriumkarbonat-Lösung wurde wiederum anteilweise mit je 100 ml der obigen Lösungsmittel extrahiert. Diese wurden vereinigt und zur Trockne eingeeengt (Alkaloidfraktion).

Tabelle 23

	P. incarnata	P. quadrangularis	P. pulchella
Petroläther-Extrakt	1, 950 g	2, 580 g	2, 350 g
Methanol-Extrakt	22, 350 g	26, 680 g	18, 320 g
Alkaloidfraktion	0, 045 g	0, 062 g	0, 051 g

4.2 Chromatographische Methodik

Die Alkaloidfraktion wurde in 4 ml Methanol aufgenommen und durch eine Glasfritte G3 filtriert. Das Filtrat wurde mit einem Auftragegerät TNO DELTT (DESAGA) strichförmig auf eine 1, 5 mm dicke mit Kieselgel PF₂₅₄ bereitete Schicht von 20 x 20 cm aufgetragen.

Die Vergleichssubstanzen Harman, Harmin und Harmol liefen am Rande der Platte mit. Entwickelt wurde im System Aceton - Chloroform (8 : 2). Nach Verdunstung des Laufmittels markierte ich unter der UV-Lampe die entsprechenden blau fluoreszierenden Streifen, löste sie in Anteilen mittels einer Rasierklinge von der Glasplatte und überführte sie verlustlos mit Pergamentpapier in Extraktionshülsen.

Diese wurden im Soxhlet während 5 Stunden mit Methanol extrahiert. Der Extrakt wurde bis auf 20 ml eingengt und durch einen kleinen Papierfilter in ein 25 ml-Meßkölbchen filtriert. Anschließend wurde unter Nachspülen des Filters bis zur Marke aufgefüllt.

Diese Lösung wurde für die spektrophotometrische Messung verwendet. Eine gleichermaßen behandelte Blindprobe mit leerem Kieselgel erbrachte keine Eigenextinktion, die das Ergebnis hätte beeinflussen können.

4.3 Vergleichssubstanzen

Genau eingewogene Mengen der Vergleichssubstanzen wurden gleichermaßen behandelt und nach der Chromatographie für die UV-Messung vorbereitet.

Weiterhin dienten definierte Lösungen dazu, die $\epsilon_{\max}$ -Werte zu bestimmen.

Die Übersicht enthält Angaben von HESSE (1964) und AMBÜHL (1966),
verglichen mit den von uns erhaltenen Meßwerten.

HARMAN

a) AMBÜHL	234	56372	4,75
b) HESSE	234	34300	4,535
c) eig. Wert	235	45586	4,658
a)	288	24692	4,39
b)	287,5	14840	4,171
c)	288	20370	4,309
b)	335	4050	3,607
c)	336	5973	3,776

HARMIN

a) AMBÜHL	241	47326	4,68
c) eig. Wert	240	45369	4,657
a)	301	18553	4,27
c)	300	18187	4,25

HARMOL

a) AMBÜHL	242	55293	4,74
c) eig. Wert	240	53110	4,73
a)	304	19974	4,30
c)	300	19554	4,29

$\lambda_{\max}$

$\epsilon_{\max}$

$\lg \epsilon_{\max}$

4.4 UV-Spektren der Vergleichssubstanzen

a) Harman

$\lambda_{\max}$	235	288	335 nm
$\epsilon_{\max}$	45586	20370	5973
$\lg \epsilon_{\max}$	4,66	4,31	3,71

$c = 1,1584 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1} = 0,6362 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ in Methanol

b) Harmin

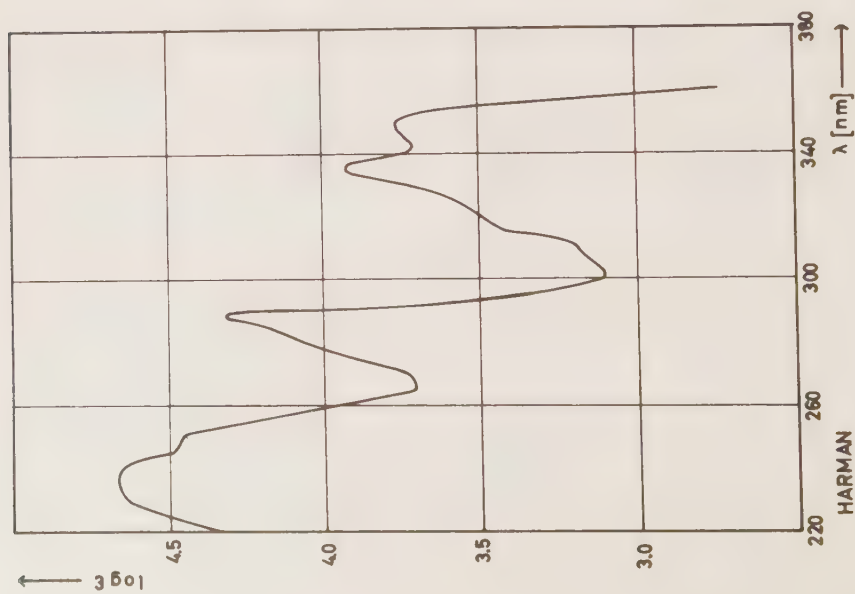
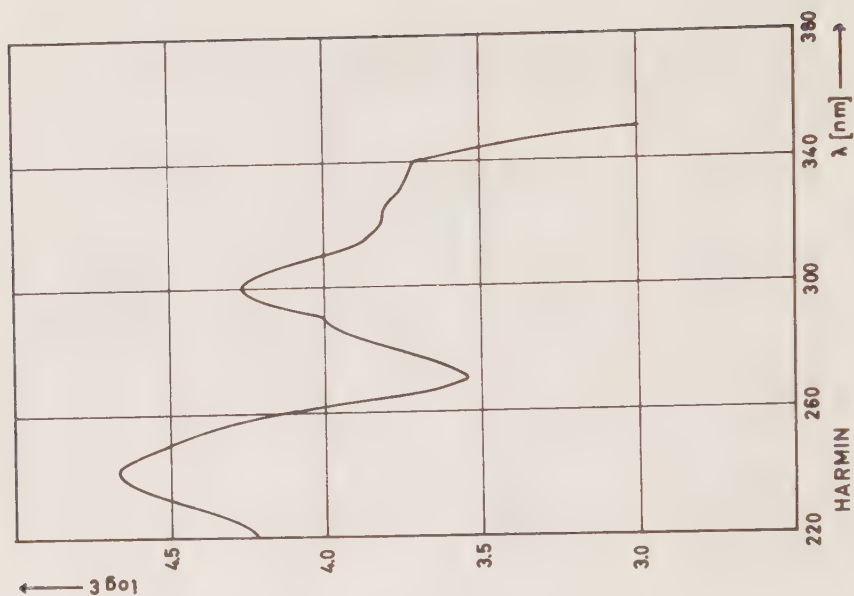
$\lambda_{\max}$	240	300
$\epsilon_{\max}$	45369	18187
$\lg \epsilon_{\max}$	4,65	4,26

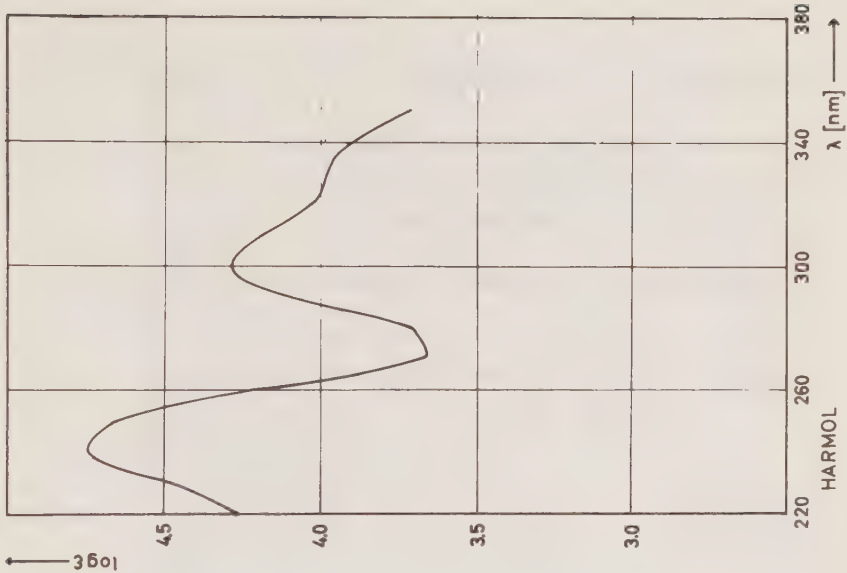
$c = 2,0304 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1} = 0,7595 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ in Methanol

c) Harmol

$\lambda_{\max}$	240	300
$\epsilon_{\max}$	53110	14980
$\lg \epsilon_{\max}$	4,73	4,18

$c = 3,88 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1} = 1,95867 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ in Methanol





4.5 Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen der chromatographierten Vergleichssubstanzen und Berechnung des Korrekturwertes

Harman, Harmin und Harmol wurden in je 3 Ansätzen, wie beschrieben, chromatographiert. Ihre Lösungen wurden bei den angegebenen Maxima gemessen:

Harman	$\lambda_{\max}$	235 nm	$\epsilon_{\max}$	45586	MG 182,09
Harmin	$\lambda_{\max}$	240 nm	$\epsilon_{\max}$	45369	MG 212,25
Harmol	$\lambda_{\max}$	240 nm	$\epsilon_{\max}$	53110	MG 198,09

Es wurde die Konzentration c_2 der Vergleichssubstanz bestimmt, die nach der präparativen Schichtchromatographie erhalten wurde.

$$c_2 = \frac{E \cdot MG}{\epsilon \cdot d}$$

Tabelle 25

	HARMAN			HARMIN			HARMOL		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
$c_2 (10^{-2} \text{ g l}^{-1})$	8,28	17,00	11,2	18,08	16,96	16,12	16,68	18,36	17,24
Erhaltene Substanz (mg)	2,07	4,25	2,8	4,52	4,24	4,03	4,17	4,59	4,31
$c_1 (10^{-2} \text{ g l}^{-1})$	9,6	20,4	12,8	20,8	20,0	19,60	19,2	20,4	20,0
Eingesetzte Substanz (mg)	2,4	5,1	3,2	5,2	5,0	4,9	4,8	5,1	5,0
$\frac{c_2}{c_1} (\%)$	86,2	83,4	87,5	86,9	85,0	82,4	87,0	90,1	86,3
Fehler (%)	13,8	16,6	12,5	13,1	15,0	17,6	13,0	9,9	13,7
Fehler-Mittelwert (%)		14,3			15,23			12,2	

4.6 Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen der Alkaloidfraktionen

- von
- | | |
|-----|----------------------------------|
| I | <i>Passiflora incarnata</i> |
| II | <i>Passiflora quadrangularis</i> |
| III | <i>Passiflora pulchella</i> |

Für jede Art wurde der Gehalt an Harman, Harmin und Harmol ermittelt.

4.6.1 *P. incarnata*

a) HARMAN-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harman-Fraktion wurden 0,9 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,32 bei 235 nm ($d = 1$ cm).

$$c_2 = \frac{E \cdot MG}{\epsilon \cdot d} = \frac{0,32 \cdot 182,09}{45586} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 1,278 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,89 \cdot 10^{-3}$ g Harman (unkorrigierter Wert).

b) HARMIN-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harmin-Fraktion wurden 0,9 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,128 bei 240 nm.

$$c_2 = \frac{0,128 \cdot 212,25}{45369} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 0,5988 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,42 \cdot 10^{-3}$ g Harmin (unkorrigierter Wert).

c) HARMOL-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harmol-Fraktion wurden 0,9 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,246 bei 240 nm.

$$c_2 = \frac{0,246 \cdot 198,09}{53110} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 0,918 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,64 \cdot 10^{-3}$ g Harmol (unkorrigierter Wert).

4.6.2 P. quadrangularis

a) HARMAN-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harman-Fraktion wurden 0,8 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,205 bei 235 nm.

$$c_2 = \frac{0,205 \cdot 182,09}{45586} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 0,919 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,64 \cdot 10^{-3}$ g Harman (unkorrigierter Wert).

b) HARMIN-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harmin-Fraktion wurden 0,9 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,135 bei 240 nm.

$$c_2 = \frac{0,135 \cdot 212,25}{45369} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 0,646 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,44 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ Harmin
(unkorrigierter Wert).

c) HARMOL-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harmol-Fraktion wurden 0,6 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,071 bei 240 nm.

$$c_2 = \frac{0,071 \cdot 198,09}{53110} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 0,265 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,28 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ Harmol
(unkorrigierter Wert).

4.6.3 P. pulchella

a) HARMAN-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harman-Fraktion wurden 0,8 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,30 bei 235 nm.

$$c_2 = \frac{0,30 \cdot 182,09}{45586} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 1,198 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,94 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ Harman
(unkorrigierter Wert).

b) HARMIN-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harmin-Fraktion wurden 0,9 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lö-

sung hatte den E-Wert 0,24 bei 240 nm.

$$c_2 = \frac{0,24 \cdot 212,25}{45369} \text{ g l}^{-1}$$

$$c_2 = 1,123 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,78 \cdot 10^{-3}$ g Harmin
(unkorrigierter Wert).

c) HARMOL-Bestimmung

Von 25 ml der für die Messung bestimmten Harmol-Fraktion werden 0,9 ml entnommen und zu 25 ml verdünnt. Diese Lösung hatte den E-Wert 0,368 bei 240 nm.

$$c_2 = \frac{0,368 \cdot 198,09}{53110} \text{ h l}^{-1}$$

$$c_2 = 1,373 \cdot 10^{-3} \text{ g l}^{-1}$$

Danach enthält die Fraktion $0,95 \cdot 10^{-3}$ g Harmol
(unkorrigierter Wert).

Die korrigierten Werte sind in der Tabelle 13 zusammengefaßt.

VIII

Zusammenfassung

In einer vergleichenden chromatographischen Untersuchung wird bei drei Passiflora-Arten - *P. incarnata*, *P. quadrangularis*, *P. pulchella* - übereinstimmend das Vorhandensein der Indolalkaloide Harman, Harmin und Harmol festgestellt. Für jede Art wird eine spektrophotometrische

Bestimmung dieser Einzelalkaloide nach schichtchromatographischer Trennung durchgeführt.

Das Vorkommen von Flavonoiden bei *P. incarnata* wird bestätigt. Von sieben pc nachgewiesenen Flavonoiden werden vier als Flavon-C-Glykoside identifiziert, und zwar:

Saponarin, Saponaretin, Vitexin und Homo-Orientin.

Die gleichen Flavonoide werden auch bei *P. pulchella* nachgewiesen. *P. quadrangularis* enthält nur drei der genannten Flavonoide:

Saponarin, Saponaretin und Vitexin.

1. Die Identifizierung der *Passiflora*-Arten wird anhand ihrer Inhaltsstoffe ermöglicht.
2. Anhand der Erkenntnisse anderer Autoren und der vorliegenden Untersuchungsergebnisse wird diskutiert, ob die im HAB offizinelle *P. incarnata* durch die anderen zwei *Passiflora*-Arten ersetzt werden kann.

IX Diskussion

Die phytochemische Untersuchung von *Passiflora incarnata* wurde vorgenommen, um eine Methode zu erarbeiten, die eine sichere Identifizierung dieser Spezies und die Differenzierung von weiteren Arten ermöglichen sollte. Zu diesem Zweck wurden aus dem methanolischen Extrakt von *P. incarnata* sowie drei weiteren *P.*-Arten Flavonoid- und Alkaloidpräparate dargestellt, deren Zusammensetzung anhand der Papier- und Dünnschichtchromatographie ermittelt wurde.

In diesem Zusammenhang war es interessant, zu klären, ob die in Arzneibüchern offizinelle *P. incarnata* durch weitere Arten austauschbar sei.

Die chromatographische Untersuchung von *P. incarnata* im Vergleich mit *P. quadrangularis* und *P. pulchella* brachte auf dem Alkaloidsektor eine Übereinstimmung im Gehalt an den drei Carbolin-Basen Harman, Harmin und Harmol. Das Vorkommen von Harmalin in *P. incarnata* konnten wir, in Übereinstimmung mit LUTOMSKI (1959, 1960), im Gegensatz zu AMBÜHL (1966) nicht reproduzieren.

Der Gehalt an Alkaloiden, die man als die hauptsächlich für die sedierende Wirkung von *P. incarnata* verantwortlichen Inhaltsstoffe ansieht, wurde für jede Art durch die spektrophotometrische Bestimmung der Einzelbestandteile ermittelt. Daraus wurden die folgenden Gesamtalkaloidquantitäten errechnet:

<i>P. incarnata</i>	0,0022 %
<i>P. quadrangularis</i>	0,0015 %
<i>P. pulchella</i>	0,0030 %

Für *P. incarnata* gab LUTOMSKI (1960) einen Gehalt von 0,09 % an, AMBÜHL (1966) ermittelte 0,0086 bis 0,0114 %, der also merklich

niedriger liegt. LUTOMSKI (1959) berichtete aber auch, daß in Polen angebaute *P. incarnata* nur 1/3 des Alkaloidgehaltes einer importierten Droge aufwies.

Die Untersuchung der Flavonoidpräparate erbrachte für jede der drei *Passiflora*-Arten eine unterschiedliche Anzahl von Flavonoiden:

<i>P. incarnata</i>	7 Flavonoide
<i>P. quadrangularis</i>	6 Flavonoide
<i>P. pulchella</i>	5 Flavonoide

Nach der Prüfung der Flavonoid- und Alkaloidfraktionen ließ sich für jede Art das auf Seite 73 dargestellte "typische Inhaltsstoffmuster" formulieren. Es ist also möglich, die drei untersuchten *P.*-Arten anhand ihrer Inhaltsstoffe voneinander zu unterscheiden.

Wie sind nun die qualitativen und quantitativen Ergebnisse dieser Untersuchung im Hinblick auf die Austauschbarkeit von *P. incarnata* zu beurteilen? Betrachtet man die nachgewiesenen Inhaltsstoffe und deren fast übereinstimmendes Vorkommen in allen drei *Passiflora*-Arten, so könnte man zunächst einen Austausch von *P. incarnata* befürworten. Bis heute ist aber noch nicht mit Sicherheit bekannt, welcher oder welche Inhaltsstoffe hauptsächlich für die sedative Wirkung von *P. incarnata* verantwortlich zu machen sind. Man darf z. B. den Alkaloidgehalt der *Passifloren* wohl nicht als Maßstab für die sedative Wirksamkeit wählen. So zeigte ein pharmakologischer Vergleich zwischen *P. incarnata* und *P. coerulea* (PARIS, 1963), die einen etwa 3fach höheren Alkaloidgehalt aufweist (AMBÜHL, 1966), daß *P. incarnata* zuverlässiger sedierend wirkte. Die sedative Wirkung der Flavonoide ist bisher nur durch eine einzige Arbeit (LUTOMSKI et WROCINSKI, 1960) belegt. Auch sind weder *P. quadrangularis* noch *P. pulchella* bisher auf ihre sedative Wirksamkeit getestet worden.

Es scheint uns daher verfrüht, bei dem heutigen Stand der Kenntnisse von den *P. incarnata*-Inhaltsstoffen und deren Wirkungen einen Austausch dieser Spezies durch weitere Arten zu befürworten.

LITERATURVERZEICHNIS

- AMBÜHL, H.: Dissert. ETH Zürich (1966)
- ANDRADE, de P. B.: ref.: Plantas e Substâncias vegetais toxicas e
medicinais von HOEHNE, F.C. 199 (1939),
Sao Paulo
- BARGER, G.: J. Chem. Soc. 89, 1210 (1906)
- BENTLY, K.W.: The Alkaloids Vol. I, 146 (1957), Interscience
Publishers New York
- BÖHM, K.: Arzneim.-Forsch. 9, 539 (1959)
- BÖHM, K.: Arzneim.-Forsch. 10, 188 (1960)
- BOOR, de W.: Pharmakopsychologie u. Psychopathologie (1956) 211
- BORGATTI, G.: Arch. ital. Sci. farmacol. 8, 173 (1939); ref.: Ber.
ges. Physiol. 117, 148 (1940)
- BORKOWSKI, B.: Biul. Inst. Roslin Leczn. 5, 158 (1959);
ref.: C. A. 54, 15844 (1960)
- BRIGGS, L. H. et CAMBIE, R. C.: Tetrahedron 3, 269 (1958)
- CANDOLLE, de A. P.: Prodromus Systematis Naturalis Regni Vege-
tabilis, Bd. III, 321 (1828); ref.: HARMS,
H. (1925)
- CHOPIN, N. J.: C. R. Acad. Sc. Paris 262, 662 (1960)
- DOMINGUEZ, J. A.: Contrib. al estud. de la compos. quim. pl.
argent. Trab. Inst. Bot. y Farmac. Buenos
Aires 40 (1919);
ref.: HARMS, H. (1925)
- ENGLER, A.: Syllabus der Pflanzenfamilien (Hrsg. H. MELCHIOR),
Verlag Gebr. Borntraeger, Berlin 1964, Bd. II p. 322

- EVANS, H. W. et al.: H. chem. Soc., 3510 (1957)
- FARNSWORTH, N. R. et al.: Lloydia Vol. 27, 302 (1964)
- FARNSWORTH, N. R. et al.: Lloydia Vol. 29, 101 (1966)
- FELLOWS, E. J. et SMITH, C. S.: J. Amer. pharmac. Ass. 27, 65 (1938)
- FERRARI: De florum cultura (1633); ref.: MADDAUS, G. Lehrb. d. biolog. Heilmittel Abt. I, Bd. III, 2070 (1938)
- FLÜCK, H.: Schweiz. Apotheker-Ztg. 96, 733, 753, 801 (1958)
- GÄNSHIRT, H. et MORIANZ, K.: Arch. Pharmaz. 293, 1065 (1960)
- GEISSMAN, T. A. in PAECH, K. u. TRACEY, M. V. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Springer-Verlag, Berlin 1955, Bd. III, 462, 492
- GLOTZBACH, B. et RIMPLER, H.: Planta medica 16, 1 (1968)
- GOEBEL, F.: Ann. 38, 363 (1841)
- GUERTZENSTEIN: Ärztlicher Führer durch die brasilianische Pflanzenmedizin; ref.: MADDAUS, G. (1938)
- GUIGNARD: Bull. Sc. Pharmac. 13, 603 (1906); ref.: HARMS, H. (1925)
- GUNN: Arch. Int. Pharmacodyn. 50, 379 (1935)
- HÄNSEL, R. in LINSKENS, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik (1959)
- HÄNSEL, R.: Flavonoide, chemische Wertbestimmung u. therapeutische Wirkung, Dtsch. Apotheker-Ztg. 105, 411 (1965)
- HÄNSEL, R.: Arzneipflanze u. Arzneimittelforschung, Dtsch. Apotheker-Ztg. 107, 1534 (1967)
- HÄNSEL, R. et RIMPLER, H.: Arch. Pharmaz. 296, 598 (1963)
- HALE, E. M.: Materia medica and special therapeutics of the new remedies, 4. Aufl., New York u. Philadelphia (1875); ref.: NEU, R.: Arzneim.-Forsch. 4, 601 (1954)

- HARBORNE, J. B. in GEISSMAN, T. A.: The chemistry of flavonoid compounds (1962) 593
- HARBORNE, J. B.: Comparative biochemistry of the flavonoids Academic Press London (1967)
- HARMS, H. in ENGLER und PRANTL 21, 470 (1925)
- HAUSCHILD, F.: Pharmakologie u. Grundlagen der Toxikologie, VEB Georg Thieme, Leipzig, 699 (1956)
- HAYNES, L. J.: Advances in Carbohydrate Chemistry 18, 227 (1963) Academ. Press
- HENRY, Th. A.: The Plant Alkaloids (1949) 488
- HEß, W. R.: Schw. Arch. F. Neur. u. Psych. Bd. II (1925)
- HESSE, M.: Indol-Alkaloide in Tabellen (1964) 94, Springer-Verlag
- HESSE, O.: Ber. Dtsch. chem. Ges. 11, 1542 (1878)
- HÖRHAMMER, L. et Mitarb.: Arch. Pharmaz. 292, 380 (1959)
- HÖRHAMMER, L.: Ber. XXI Intern. Kongr. Pharmazeut. Wissenschaften, Pisa (1961)
- HÖRHAMMER, L.: Tetrahedron Letters 22, 1707 (1965)
- HOROWITZ, R. M. et GENTILI, B.: Chem. and Ind. (1964) 498
- HULTIN, E.: Acta Chemica Scandinavica 19 1431 (1965)
- IRRGANG, K.: Fortschr. Therap. 18, 145 (1942)
- ISAAC, O.: Chemie u. Pharmakologie der Flavone, Pharm. Ztg. 102, 71 (1957)
- JURD, L. in GEISSMAN, T. A., Pergamon Press (1962) 107
- KARRER, W.: Konst. u. Vork. d. org. Pflanzenstoffe (1958)
- KLEIN, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse Bd. III/2, 852 (1932)
- KOCH, Fr. E.: Experim. Mediz. 106, 445 (1939)

- KOEPPEN, B. H.: Z. Naturforsch. 19 b, 173 (1964)
- KOEPPEN, B. H. et ROUX, D. G.: South African med. J. 38, 154(1964)
- KOEPPEN, B. H., SMITH, C. J. B. et ROUX, D. G.: Biochem. J. 83, 507 (1962)
- LEWIN, L.: Phantastica (1927) 188
- LEWIN, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 129, 133 (1928)
- LEWIN, L.: Banisteria caapi, Beitr. Giftkunde, Heft 3 (1929)
- LUTOMSKI, J.: Biul. Inst. Roslin Leczn. 5, 182 (1959);
ref.: C. A. 54, 16751 (1960)
- LUTOMSKI, J.: Biul. Inst. Roslin Leczn. 6, 209 (1960);
ref.: C. A. 55, 21479 (1961)
- LUTOMSKI, J. et WROCINSKI, T.: Biul. Inst. Roslin Leczn. 6, 176
(1960); ref.: Chem. Zbl. 132,
11804 (1961)
- MADAUS, G.: Lehrb. d. biolog. Heilmittel Abt. I, Bd. III 2070 (1938)
- MANSKE, R. H. F. et HOLMES, H. L.: The Alkaloids, Vol. II, 393(1952)
- MANSKE, R. H. F.: The Alkaloids Vol. VII, 1 (1960)
- MARAGONI, P.: Arch. ital. Sci. farmacol. 11, 74 (1942);
ref.: Ber. ges. Physiol. 131, 590 (1943)
- MATTA, da A. A.: Heilpflanzen in Brasilien (1913) 176
- MOLISCH, H.: Mikrochemie der Pflanze (1923) 199
- NEU, R.: Arzneim.-Forsch. 4, 601 (1954)
- NEU, R.: Arzneim.-Forsch. 6, 94 (1956)
- NEU, R.: Naturwiss. 44, 181 (1957)
- NEUGEBAUER, H.: Pharmazie 4, 167 (1949)

- NÜRNBERGER, R.: Pharmazie 7, 476 (1964)
- ORZECZOWSKI, G.: Planta medica 10, 403 (1962)
- PARIS, R.: Ann. pharm. franç. 21, 389 (1963)
- PECKOLT, Th.: Ber. Dtsch. Pharm. Ges. 19, 351 (1909)
- PITTIER: Manual de las plantas usales de Venezuela (1926) 331
- RAO, C. B. et VENKATESWARLU, V.: J. Sci. Ind. Res. India, 21B, 313 (1962)
- REKO, V. A.: Magische Gifte, F. Enke Verlag, Stuttgart (1949)
- RICORD-MADIANA, J. B.: Bull. Sci. méd. 17, 172 (1825)
- RIETH, R.: Liebigs Ann. Chem. 120, 247 (1861)
- RUGGY, G. H. et SMITH, C. S.: J. Americ. pharmac. 29, 207, 245 (1940)
- SACK, J.: Pharm. Weekbl. 48, 307 (1911); ref.: HARMS, H. (1925)
- SCHILCHER, H.: Dtsch. Apotheker-Ztg. 107, 849 (1967)
- SCHINDLER, H.: Arzneim.-Forsch. 5, 491 (1955)
- SEIKEL, M. K. in GEISSMAN, T. A. Pergamon Press (1962) 34
- SEIKEL, M. K. et GEISSMAN, T. A.: Arch. Biochem. Biophys. 71, 17 (1957)
- SEIKEL, M. K. et BUSHNELL, A. J.: J. Organ. Chem. 24, 1995 (1959)
- SEIKEL, M. K. et al.: Phytochemistry 5, 439 (1966)
- SHINODA, J.: J. pharmaz. Soc. Japan 48, 214 (1928)
- SIGG, E. B. et al.: Arch. int. Pharmacodyn, No. 1 - 2, 149 (1964)
- SINN, M.: Dissert. Würzburg (1967)
- SORM, F. et al.: Chem. Listy 46, 308 (1952); ref.: BÖHM, K. (1960)

- SPÄTH, E.: Mh. Chem. 40, 351 (1919)
- SPÄTH, E.: Mh. Chem. 41, 401 (1920)
- STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie, 2. Auflage (1967)
- STAPLETON: Detroit med. J. (1904)
- THEODOSSIOU, Ph.: Trav. Soc. Pharmac. Montpellier 25, 43 (1965);
ref.: C. A. 65, 10425 (1966)
- TRONCHETE, J.: Bull. soc. franç. physiol. végétale (1960) 99;
ref.: C. A. 55, 21271 (1961)
- Vorschläge für das neue Deutsche Homöopathische Arzneibuch, Heft 6,
344 (1960)
- WEHMER: Pflanzenstoffe (1911) 510; ref.: HARMS, H. (1925)
- WETTSTEIN, R.: Handbuch der systemat. Botanik (1962) 737
- WILSON, R. et al.: J. Pharmacol. exp. Therap. 90, 120 (1947)

Lebenslauf

Am 13. Dezember 1938 wurde ich als Sohn des Apothekers Ludwig Glotzbach und seiner Ehefrau Ria, geb. Oetker, in Hamburg-Wandsbek geboren.

Vom Herbst 1945 bis Ostern 1949 besuchte ich die Volksschule und anschließend bis zum Abitur im März 1957 das Matthias-Claudius-Gymnasium in Hamburg-Wandsbek.

Im April 1957 begann ich in der "Apotheke in Hamburg-Wellingsbüttel" meine pharmazeutische Ausbildung, die ich im März 1959 mit dem Vor-examen abschloß. Danach leistete ich meinen auf 18 Monate verlängerten Wehrdienst ab. Im Wintersemester 1960/61 studierte ich an der Universität Hamburg Biologie. Zum Sommersemester 1961 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Pharmazie an der Technischen Hochschule zu Braunschweig. Im März 1964 legte ich die Pharmazeutische Prüfung ab. Als Kandidat der Pharmazie war ich je ein Halbjahr in der Bahnhof-Apotheke, Hamburg-Rahlstedt, und in der Gertruden-Apotheke, Berlin-Lichterfelde, tätig.

Die Approbation als Apotheker erhielt ich im Juni 1965.

Vom Mai 1965 an bin ich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin beschäftigt.

Seit Oktober 1965 bin ich als wissenschaftlicher Hilfsassistent und als wissenschaftlicher Tutor am gleichen Institut tätig.

